

UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA



**“CUANTIFICACIÓN DE ASPARTAME Y ACESULFAME DE POTASIO EN BEBIDAS
GASEOSAS EXPENDIDAS EN LOS SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE CUENCA”**

**Trabajo de Titulación previo a la obtención
del título de Bioquímico Farmacéutico**

AUTORAS

Jennyfer Karina Astudillo Orellana

CI: 0106550718

Ana Belén Orellana Cobos

CI: 0106488513

DIRECTORA

Dra. Jéssica Andrea León Vizñay

CI: 0104848098

CUENCA-ECUADOR

2017

RESUMEN

Debido a los posibles efectos carcinogénicos, mutagénicos y genotóxicos de los edulcorantes artificiales no calóricos y el consumo masivo de productos con estos aditivos, su uso ha sido muy controversial. Existen normas que establecen los límites máximos de edulcorantes que deben estar presentes en dichas bebidas; sin embargo, mantener un control de estas concentraciones se complica debido a que en las normas generales de etiquetado de alimentos, no se obliga al fabricante a colocar las cantidades de edulcorante que posee dicho producto.

El objetivo de este estudio fue realizar una cuantificación de edulcorantes en bebidas gaseosas que se expenden en los supermercados de la ciudad de Cuenca, mediante construcción de una curva de calibración tanto de Aspartame como de Acesulfame de potasio por el método de espectrofotometría UV y monitorizar que no se excedan los niveles máximos de 600 mg/kg tanto para Aspartame como para Acesulfame de potasio establecidos en la norma CODEX STAN (192-1995).

Se encontraron dieciséis bebidas con Aspartame y Acesulfame de potasio. "Pepsi Light" es la que presenta mayor concentración de Acesulfame de potasio, y "Sprite Zero", tiene la menor concentración. En el caso del Aspartame, bebida gaseosa "Más" presenta mayor concentración y "Pepsi Zero" la menor concentración.

El análisis estadístico se realizó mediante "t de Student", que permitió demostrar que la concentración existente de edulcorantes cumple con la norma y el análisis de varianza (ANOVA) mostró que no hay diferencia entre los puntos de muestreo.

Palabras clave: Aspartame, Acesulfame de potasio, espectrofotometría UV, bebidas gaseosas.

ABSTRACT

Due to the possible carcinogenic, mutagenic and genotoxic effects of artificial non-caloric sweeteners and the massive consumption of products with these additives, their use has been very controversial.

There are norms that establish the maximum limits of sweeteners that must be present in such beverages; however, maintaining control of these concentrations is due to the general rules of food labeling, the manufacturer is not obliged to place the quantities of sweetener that the product has.

The objective of this study was to quantify sweeteners in soft drinks that are sold in supermarkets in the city of Cuenca, by constructing a calibration curve for both Aspartame and Acesulfame potassium by the UV spectrophotometry method and monitor that the maximum levels of 600 mg / kg for both Aspartame and Acesulfame potassium established in the CODEX STAN standard (192-1995) are not exceeded.

Sixteen drinks were found with Aspartame and Acesulfame potassium. "Pepsi Light" is the one with the highest concentration of Acesulfame de Potassium, and "Sprite Zero" has the lowest concentration. In the case of Aspartame, "Más" gaseous drink has the highest concentration and "Pepsi Zero" has the lowest concentration.

The statistical analysis was performed using Student's t test, which shows that the existing concentration of sweeteners complies with the norm and the analysis of variance (ANOVA) showed that there is no difference between the sampling points.

Key words: Aspartame, Acesulfame potassium, UV spectrophotometry, soft drinks.

INDICE GENERAL

Pág.

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN.....	16
1. MARCO TEÓRICO	18
1.1 Alimentos.....	18
1.2 Alimentos light	18
1.3 Edulcorantes.....	18
1.3.1 Edulcorantes Calóricos.....	19
1.3.2 Edulcorantes No Calóricos	19
1.3.3 Reseña Histórica de los Edulcorantes no Calóricos	20
1.4 Bebidas Gaseosas.....	21
1.4.1 Definiciones.....	21
1.4.2 Historia de las bebidas gaseosas	22
1.4.3 Elaboración bebidas gaseosas.....	22
1.5 Aspartame	24
1.5.1 Definición	24
1.5.2 Propiedades físico químicas.....	25
1.5.3 Metabolismo.....	25
1.5.4 Métodos de cuantificación	27
1.6 Acesulfame de potasio.....	27
1.6.1 Definición	27
1.6.2 Propiedades físico químicas.....	28
1.6.3 Metabolismo.....	28
2. METODOLOGÍA	30
2.1 Tipo de estudio	30
2.2 Área de estudio.....	30
2.3 Muestreo.....	30
2.4 Variables.....	32
2.5 Método espectrofotometría UV	32
2.5.1 Fundamento	32
2.5.2 Espectrofotometría UV- visible	32
2.6 Extracción y Análisis por espectrofotometría UV-visible.....	33
2.6.1 Materiales, equipos y reactivos.....	33

2.6.2	Preparación de estándares y Curvas de calibración	33
2.7	Extracción y lectura de muestras	34
2.7.1	Extracción de Acesulfame de potasio	34
2.7.2	Cuantificación de Acesulfame de potasio en espectrofotómetro ultravioleta	34
2.7.3	Extracción de Aspartame	35
2.7.4	Cuantificación de Aspartame en espectrofotómetro ultravioleta	35
2.8	Análisis Estadístico	35
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
3.1	Cuantificación de Acesulfame de potasio	36
3.2	Cuantificación de Aspartame	36
3.3	Estadística descriptiva	36
3.4	Comparación de valores experimentales con la norma CODEX STAN (192-1995)	40
3.5	Comparación de concentraciones en los puntos de muestreo	41
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	43
4.1	Conclusiones	43
4.2	Recomendaciones	44
	ABREVIATURAS.....	45
	REFERENCIAS.....	46
	ANEXOS	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Flujograma de elaboración de bebidas gaseosas.....	24
Figura 2. Estructura química del Aspartame.....	25
Figura 3. Estructura química del Acesulfame de potasio.....	28
Figura 4: Curva de calibración Acesulfame de potasio.....	59
Figura 5: Curva de calibración Aspartame.....	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Plan de muestreo.....	32
Tabla 2: Variables de estudio.....	33
Tabla 3: Valores de concentración y absorbancia correspondientes a estándares de Acesulfame de potasio mediante espectrofotometría UV.....	37
Tabla 4: Valores de concentración y absorbancia correspondientes a estándares de Aspartame mediante espectrofotometría UV.....	37
Tabla 5: Desviación estándar de medias de concentración de Acesulfame de potasio en bebidas gaseosas.....	38
Tabla 6: Máximos y mínimos de concentración (ppm) de Acesulfame de potasio en bebidas gaseosas	39
Tabla 7: Desviación estándar de medias de concentración de aspartame en bebidas gaseosas.....	39
Tabla 8: Máximos y mínimos de concentración (ppm) de Aspartame en bebidas gaseosas.....	40
Tabla 9: Concentración en miligramos de aspartame y acesulfame de potasio por botella de bebida gaseosa.....	40
Tabla 10: Comparación de valores experimentales con la norma CODEX STAN (192- 1995) mediante prueba t- Student.....	42
Tabla 11: Comparación de concentraciones en los puntos de muestreo mediante análisis de varianzas (ANOVA)	43

CLAUSULAS DE LICENCIA Y AUTORIZACION PARA PUBLICACION EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL



Universidad de Cuenca

Cláusula de Licencia y Autorización para Publicación en el Repositorio Institucional

Jennyfer Karina Astudillo Orellana, en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "CUANTIFICACIÓN DE ASPARTAME Y ACESULFAME DE POTASIO EN BEBIDAS GASEOSAS EXPENDIDAS EN LOS SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE CUENCA" ", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 23 Noviembre de 2017



Jennyfer Karina Astudillo Orellana

CI: 010655071-8



Universidad de Cuenca
Cláusula de Licencia y Autorización para Publicación en el Repositorio Institucional

Ana Belén Orellana Cobos, en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "CUANTIFICACIÓN DE ASPARTAME Y ACESULFAME DE POTASIO EN BEBIDAS GASEOSAS EXPENDIDAS EN LOS SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE CUENCA" ", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 23 Noviembre de 2017



Ana Belén Orellana Cobos

CI: 010648851-3

CLÁUSULAS DE PROPIEDAD INTELECTUAL



Universidad de Cuenca
Cláusula de Propiedad Intelectual

Jennyfer Karina Astudillo Orellana, autora de la tesis "CUANTIFICACIÓN DE ASPARTAME Y ACESULFAME DE POTASIO EN BEBIDAS GASEOSAS EXPENDIDAS EN LOS SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE CUENCA", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 23 de noviembre de 2017



Jennyfer Karina Astudillo Orellana

CI: 010655071-8

CLÁUSULAS DE PROPIEDAD INTELECTUAL



Universidad de Cuenca
Cláusula de Propiedad Intelectual

Ana Belén Orellana Cobos, autora de la tesis "CUANTIFICACIÓN DE ASPARTAME Y ACESULFAME DE POTASIO EN BEBIDAS GASEOSAS EXPENDIDAS EN LOS SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE CUENCA", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 23 de noviembre de 2017



Ana Belén Orellana Cobos

CI: 010648851-3

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a mis padres, Jaime y Gladis, a mis hermanos Xavier, Jimmy, Robinson y Mireya por haber sido de gran apoyo durante el curso de mi carrera, brindándome su amor y confiando en mí. Ellos han sido mi fuente de inspiración y mi motor en este camino.

A mis sobrinos Matías, Francesca, Jamie, Danna, Cassie, Nicolás, María Emilia y Yasmani que los amo con todo mi corazón.

También quiero agradecer a mis amigas Diana y Belén por su soporte en los momentos más difíciles y por brindarme su amistad incondicional.

A mi familia y amigos en general que han sabido aportar con su granito de arena en este caminar profesional.

Karina

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a mis padres, Danilo e Inés quienes me han apoyado en todo momento a lo largo de mis estudios y en mi formación personal; brindándome su apoyo, motivación y ayuda en cada momento de mi carrera.

A mis hermanos Vanessa y Danilo que han sido parte importante también con su apoyo en cada proyecto realizado en la universidad, para lo cual me han brindado su ayuda y conocimientos en el momento más indicado.

A Karina que ha sido mi amiga desde un principio hasta la culminación de esta etapa tan hermosa que representa la Universidad.

Y a todos mis amigos y familiares que han contribuido a mi formación profesional y que de diferentes maneras me han impulsado a seguir adelante.

Belén

AGRADECIMIENTO

Agradezco infinitamente a Dios por haber puesto en mi corazón el anhelo de seguir esta carrera tan noble y hermosa mediante la cual puedo ayudar, en el área de la salud, a las personas que más lo necesiten.

Agradezco también a mis padres por haberme apoyado en cada área de mi vida para que cada uno de mis sueños se cumplan, a pesar de los errores iniciales, supieron estar conmigo incondicionalmente, estaré eternamente agradecida por su amor, los amo con todo mi corazón.

A mis hermanos, cuñados y sobrinos que llenan cada área de mi vida, me han sabido aconsejar, guiar y apoyar; ustedes han sido mi motor, todo esto es por y para ustedes.

A ti, mi Diana querida, por confiar en mí y estar en cada momento, bueno y malo, a lo largo de mi vida, no tengo palabras para expresar lo agradecida que estoy contigo mi pilar.

También a ti, mi Belén, por haber sido mi amiga y compañera de fórmula en este trabajo de titulación, por la paciencia, sabiduría y apoyo incondicional.

A las personas que han sabido guiarme espiritualmente, en poco tiempo se han convertido en seres demasiado especiales y fundamentales en mi vida.

Karina

AGRADECIMIENTO

Doy gracias primero a Dios por haberme guiado y ayudado en cada etapa de la carrera, así como por haberme bendecido con mi familia gracias a lo cual mantengo un gran amor a la carrera pues lo he aprendido desde muy pequeña.

A mis padres por haberme apoyado siempre en esta decisión tan importante de mi vida y por haber sido pilar fundamental en mi vida personal y mi formación profesional; los amo muchísimo y gracias por todo el apoyo.

A mis hermanos que han sido muy generosos y colaboradores conmigo cuando se los he solicitado en cualquier instante de la carrera.

A mi Kary por su perseverancia y dedicación, pues ha sido mi gran ayuda a lo largo de estos años de estudio, así como para este trabajo de titulación.

A nuestra Directora, Dra. Jessica León, por haber sido nuestra guía y por su gran corazón, cooperación y exigencia durante estos meses de nuestro trabajo de titulación.

Belén

INTRODUCCIÓN

En un estudio realizado en el año 2016 en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, en jóvenes universitarios, se determinó que las gaseosas ocupan el tercer lugar de las bebidas más consumidas en dicha población (62,7%) y de éstos el 19,7% son gaseosas tipo light (Terán, 2016).

En Ecuador, en el año 2011, las principales causas de muerte se asociaron con diabetes mellitus tipo II, hipertensión arterial y enfermedades cerebrovasculares cuyos principales factores causales fueron: consumo de alimentos poco nutritivos con elevado contenido en grasa, azúcar y sal; además de la disminución de actividad física y abuso de tabaco (INEC, 2012; OMS, 2015).

Euromonitor International, una empresa dedicada a la investigación estratégica de mercado, ha realizado encuestas a nivel de Centroamérica y Sudamérica, en los que se ha concluido que, el consumo de bebidas gaseosas se ha incrementado en los últimos diez años, liderando Argentina la lista de consumidores de dichas bebidas mientras que, Ecuador se encuentra en décimo lugar con un consumo de 63,8 litros por persona al año (ProEcuador, 2015; Euromonitor International, 2017).

Debido a estas realidades, la población ha buscado alternativas que le permitan consumir alimentos con sabores y texturas similares al original pero con cantidades menores de azúcar y grasa, conocidos como “alimentos light”; cuyo auge se dio a inicios de los años noventa cuando empezaron a comercializarse en el país productos como gaseosas con edulcorantes no calóricos y productos bajos en grasa (Terán, 2016).

A partir del consumo masivo de edulcorantes, se ha visto necesario determinar su inocuidad, para lo cual, se han realizado estudios como el ejecutado por la facultad de Medicina de la Universidad de Harvard en el que se evidenció la reducción de actividad de la Fosfatasa Alcalina Intestinal en ratones que consumieron agua con Aspartame. En otro estudio realizado en la Universidad de Calcuta, India, llevado a cabo por Mukhopadhyay, Chakrabarti, & Mukherjee se administró Aspartame y Acesulfame de potasio a ratones con el fin de observar si existe un sinergismo genotóxico; luego de analizar las células de la médula ósea, se determinó que no son potencialmente genotóxicos (Bandyopadhyay, Ghoshal, & Mukherjee, 2008).

Debido a la controversia aún existente sobre el efecto tóxico del consumo de edulcorantes no calóricos y el actual consumo masivo de productos bajos en calorías, es necesario

conocer la concentración de dichos edulcorantes en las bebidas gaseosas, con el fin de no superar los valores recomendados por la Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), de 600 mg/kg para Acesulfame de potasio y para Aspartame respectivamente, y a su vez mantener la inocuidad en su consumo, respetando la Ingesta Diaria Admisible (IDA) establecida por la Food and Drug Administration (FDA), de 40 mg/kg de peso corporal para Aspartame y 15 mg/kg de peso corporal para Acesulfame de potasio, su uso no se restringe para niños y mujeres embarazadas, sin embargo no se recomienda su consumo (Codex Alimentarius, 2013).

En el presente trabajo se realizó la cuantificación mediante espectrofotometría UV- Visible, método respaldado por la Farmacopea de los Estados Unidos (USP, por sus siglas en inglés) para los dos edulcorantes previamente mencionados.

OBJETIVOS DE ESTUDIO

Objetivo General

- Determinar cuantitativamente la concentración de Aspartame y Acesulfame de potasio presente en bebidas gaseosas expendidas en los supermercados de la Ciudad de Cuenca.

Objetivos Específicos

- Aplicar espectrofotometría UV-Vis para determinar la concentración de Aspartame y Acesulfame de potasio a una muestra representativa de bebidas gaseosas expendidas en supermercados de la Ciudad de Cuenca.
- Comparar la concentración de edulcorante con los valores máximos permitidos por la FAO de edulcorantes como aditivos para bebidas gaseosas.
- Comparar la IDA de Aspartame y Acesulfame de potasio, en base a la cuantificación realizada.

Hipótesis

La concentración de Aspartame y Acesulfame de potasio en las bebidas gaseosas, cumplen los niveles permitidos para dichas bebidas por la FAO/WHO, así como la IDA para los consumidores, establecida por la FDA.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Alimentos

Partiendo del concepto dado por el Codex alimentarius, decimos que alimento es “toda sustancia, elaborada, semielaborada o bruta, que se destina al consumo humano, incluyendo bebidas, chicle y cualesquiera otras sustancias que se utilicen en la fabricación, preparación o tratamiento de los alimentos, pero no incluye los cosméticos ni el tabaco ni las sustancias utilizadas solamente como medicamentos” (Codex Alimentarius, 2013).

1.2 Alimentos light

El Codex alimentarius ha clasificado a los alimentos light dentro de la categoría de alimentos para fines medicinales especiales, cuya definición es “aquellos alimentos elaborados o preparados especialmente para satisfacer necesidades especiales de alimentación determinadas por unas condiciones físicas o fisiológicas particulares y/o por enfermedades o trastornos específicos, cuya composición deberá ser fundamentalmente diferente a la de los alimentos ordinarios con los que se comparan” (ARCSA, 2016).

1.3 Edulcorantes

Desde épocas ancestrales, los humanos han dado preferencia al consumo de alimentos dulces; sin embargo, debido a la aparición de enfermedades provocadas por el consumo de azúcar, se ha buscado una alternativa a su ingesta, que proporcione sus mismas cualidades y sensaciones, es por ello que se ha incrementado notablemente el uso de diversos edulcorantes que brinden un sabor dulce sin aporte de calorías y a menor costo (Nikoleli, Asimakopoulos, & Nikolelis, 2012).

Un edulcorante hace referencia a un aditivo alimentario capaz de mimetizar el efecto dulce que produce la sacarosa o azúcar de mesa, supera de 30 a 300 veces su dulzor, además de aportar cantidades menores de calorías. Pueden obtenerse de manera natural o se pueden sintetizar, llamando a estos últimos edulcorantes artificiales. Su consumo se ha incrementado en los últimos 35 años debido al cambio de los patrones alimentarios y se ha sustituido la dieta tradicional por una en la que se incluyen alimentos procesados, modificados tanto en la concentración de grasa como de azúcar (García Almeida, Casado, & García Alemán, 2013).

1.3.1 Edulcorantes Calóricos

Son endulzantes capaces de aportar calorías, alrededor de 4 kcal/g, son fuentes de energía rápida; el excesivo consumo de éstos se relacionan con enfermedades crónicas no transmisibles como obesidad, diabetes mellitus tipo II y enfermedades cerebrovasculares. Entre los más conocidos tenemos al sorbitol, manitol y xilitol (Durán, Cordón, & Rodríguez, 2013).

1.3.2 Edulcorantes No Calóricos

Aquellos edulcorantes que aportan un sabor dulce pero no calorías ni energía al organismo, tienen un mayor poder endulzante que los edulcorantes convencionales y su costo es menor. Entre los más populares encontramos: sacarina, aspartame, acesulfame sódico y potásico, ciclamato, sucralosa y estevia (Durán et al., 2013).

Existe una gran cantidad de bebidas no calóricas que se han endulzado con una combinación de Aspartame y Acesulfame de potasio pues esta mezcla mejora la calidad de dichos productos. Se conocen como “twinsweets” a los compuestos que contienen tanto Aspartame como Acesulfame de potasio, los cuales ofrecen ciertos beneficios como mayor estabilidad tanto del dulzor como del producto mismo (Nikoleli et al., 2012).

Estos edulcorantes combinados proporcionan un nuevo edulcorante más potente que si se los usara individualmente; por ejemplo, para obtener un nivel de dulzor equivalente al 10% de sacarosa, se usan de 500 a 600 mg/l de Aspartame o Acesulfame de potasio mientras que si se usa una mezcla de los dos, se necesita 160 mg de cada uno para obtener el mismo nivel de dulzor, es decir, se usa una proporción unimolar de 60:40 (%) de Aspartame-Acesulfame de potasio (Nikoleli et al., 2012).

El toxicólogo John Kille afirma que los edulcorantes aprobados por la FDA son aptos para el consumo de mujeres embarazadas pero estos deben ser consumidos con moderación. Estudios realizados en ratas gestantes mostraron que no hay defectos de nacimiento u otros efectos secundarios asociados a estos aditivos (Durán, Cordón, & Rodríguez, 2013).

En el caso del Aspartame, se ha demostrado que sus derivados son capaces de atravesar la placenta pero, a dosis de 200 mg/kg de peso, es decir 5 veces su IDA, no causó intoxicación por metanol ni aumentó el nivel de fenilalanina en sangre fetal (Pope, Koren, & Bozzo, 2014).

El Acesulfame de potasio también tiene la capacidad de atravesar la placenta, un estudio

en ratas demostró que los animales expuestos a este edulcorante a lo largo de su vida fetal tienen mayor preferencia por soluciones dulces durante la adultez a comparación de los animales que no recibieron Acesulfame en la etapa gestacional (Pope, Koren, & Bozzo, 2014).

El consumo de Aspartame es igual de controversial tanto en niños como en adultos, esto se da porque hay estudios que revelan que no causa daños en infantes mientras que otros revelan que si provoca efectos secundarios como dolores de cabeza que son los más comunes. (Thomas, 2016)

1.3.3 Reseña Histórica de los Edulcorantes no Calóricos

El deseo de desarrollar un sustituto del azúcar de mesa se sustentó en dos objetivos, por un lado el ámbito de la salud y por otro, el de la belleza y estética.

Se ha relacionado al azúcar como uno de los factores causantes de varias enfermedades, entre las que se tiene: obesidad, diabetes mellitus, enfermedades coronarias, caries, y otras; por ello se ha buscado sustituirla, pero a lo largo de los años, la incidencia de los problemas antes mencionados no han disminuido notablemente y, además, han aparecido otros relacionados directamente con los edulcorantes (Harvard, 2010).

En Estados Unidos, el uso de edulcorantes como sustitutos del azúcar, empezó en 1879, cuando dos científicos de la Universidad Johns Hopkins, al tratar de sintetizar una droga farmacéutica, descubrieron la sacarina, un derivado del alquitrán de hulla 300 veces más dulce que el azúcar de mesa o sacarosa (Lance, 2012).

En 1937, mientras se trabajaba en la síntesis de una droga para reducir la fiebre, un estudiante pasó los dedos por su boca y se preguntó por qué estos sabían tan dulces, se hicieron algunas investigaciones que concluyeron en el descubrimiento de un nuevo edulcorante al que denominaron ciclamato. Éste fue aprobado en 1951 por la Food and Drug Administration (FDA) para su uso en comidas y en 1953, Kirsch Beverages Corp., introdujo al mercado la primera soda dietética sin calorías, endulzada con ciclamato (Leonardo, 2012)

En 1967, debido al alto índice de consumo de sodas dietéticas, la FDA recomendó a los adultos que no consuman más de 3500 mg de ciclamato por día, lo que equivalía al consumo de 10 latas de dicha soda. En 1969 se suspendió su uso por que se demostró que el consumo prolongado de este edulcorante causa tumores en ratas de laboratorio

(Harvard, 2010).

En 1969, mientras James M. Schlatter trabajaba en el desarrollo de una droga antiulcerosa, realizó una mezcla de ácido aspártico y fenilalanina la cual saboreó, descubriendo así el sabor dulce que se produjo y dando lugar al nacimiento de un nuevo edulcorante no calórico al que posteriormente llamaría Aspartame, el mismo que siguió desarrollándose para buscar aprobación por parte de la FDA y así ser usado como aditivo alimentario, siendo una gran competencia para la sacarina, pues el ciclamato fue prohibido años atrás (Lance, 2012; Harvard , 2010)

Para 1974, la farmacéutica Guideon Daniel Searle, se dedicó a la producción de Aspartame, y pidió a la FDA la aprobación de éste como aditivo permitido en ciertos alimentos como bebidas gaseosas, goma de mascar y mermeladas; para lograrlo, presentaron estudios realizados en ratas y perros que demuestran la seguridad de este aditivo, en los que se expresa un nivel máximo de 2 g/kg de peso sin que este cause efectos negativos en el consumidor. Mediante un ensayo con un nivel de seguridad de 100 y aplicado a personas con peso de 60 kg, se determinó que se debe consumir máximo 1.2 g/día, basado en esto, la FDA calculó que la dosis individual diaria debe estar entre 1.2-1.7 g/día (Leonardo, 2012).

El Acesulfame de potasio fue descubierto en Alemania, por los químicos Karl Klauss y Harald Jenssen en Hoechst Company en 1967; el descubrimiento tuvo lugar mientras se realizaban algunos estudios para la síntesis de un nuevo anillo heterocíclico. Fue aprobado por la FDA para su uso en 1988 (Sánchez, 2014).

1.4 Bebidas Gaseosas

1.4.1 Definiciones

El Codex Alimentarius define a las bebidas gaseosas como “bebidas aromatizadas a base de agua con adición de anhídrido carbónico y con edulcorantes nutritivos, no nutritivos o intensos y otros aditivos alimentarios permitidos” (Codex Alimentarius, 2013)

Las bebidas gaseosas son bebidas analcohólicas no fermentadas, listas para consumir; elaboradas con agua purificada y gas carbónico disuelto, además contienen sustancias aromatizantes, saborizantes y otros aditivos, como colorantes orgánicos naturales, edulcorantes calóricos y no calóricos, y antioxidantes como ácido ascórbico, entre otros (Leonardo, 2012).

1.4.2 Historia de las bebidas gaseosas

La fabricación de bebidas gaseosas comenzó en Nueva York en 1832. John Matthews inventó una máquina que permitía mezclar agua, gas de dióxido de carbono y aditivos. Además, se añadían sabores como naranja, uva y limón; también se vendían este tipo de bebidas en farmacias con un fin medicinal (Leonardo, 2012).

En 1886 en Atlanta, el farmacéutico John S. Pemberton experimentó con extractos de hierbas y otras especies entre ellas nuez de kola africana y hoja de coca para obtener una nueva bebida y posteriormente se adicionó gas carbónico, a esta se conoció bajo el nombre de "Coca Cola" (Lance, 2012).

En 1898 en Carolina del Norte, Caleb Bradham, un farmacéutico, preparaba un tónico para el dolor de cabeza al que accidentalmente agregó pepsina, creando una bebida a la que registró bajo el nombre de "Pepsi", en 1903 (Leonardo, 2012).

En 1929 en Estados Unidos, se creó una fórmula con sabor a lima-limón, llamada 7 Up, fue la única marca que sobrevivió de entre 600 productos con el mismo sabor, sin embargo, The Coca Cola Company lanzó una nueva marca al mercado en 1961 conocida como Sprite (Lance, 2012).

En los años sesenta se dio por tanto una arraigada competencia por el dominio del mercado de las bebidas gaseosas, llamada "Guerra de Colas"; marcas como Coca Cola y Pepsi, adoptaron otras medidas en cuanto a sus estrategias de marketing, con el fin de mantener exitosamente sus ventas (Harvard, 2010).

Durante muchos años, la producción de bebidas gaseosas fue relativamente sencilla, sin embargo un sellado hermético que pudiera mantener el gas en la bebida, era un problema aun latente, hasta que se inventó la tapa tipo corona, para cerrar botellas de vidrio; posteriormente los envases fueron latas y botellas de plástico (Lance, 2012).

1.4.3 Elaboración bebidas gaseosas

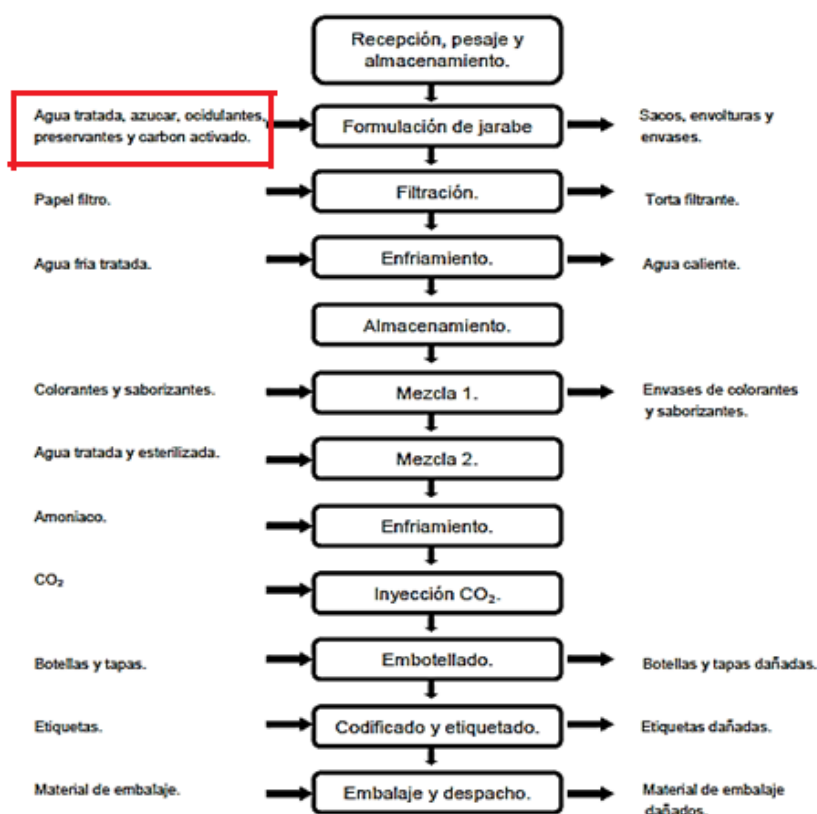
La elaboración del concentrado es el paso clave para la elaboración de las bebidas gaseosas. A inicios del siglo XIX se acostumbraba vender el concentrado a los consumidores para que preparen sus propias bebidas refrescantes, sin embargo con el pasar de los años ha evolucionado el proceso de producción y distribución hacia los puntos

de venta (Lance, 2012).

Durante el proceso de fabricación, se utilizan materiales y materias primas que hayan sido aprobadas previamente; para la elaboración de bebidas gaseosas se deben seguir una serie de pasos como los explicados en la Figura 1, con la única diferencia durante la preparación del concentrado o jarabe, que para las bebidas gaseosas light en lugar de utilizar azúcar se requieren edulcorantes no calóricos como Aspartame y Acesulfame de potasio, o cualquier otro edulcorante dependiendo de la elección del fabricante (Mera Alvarado & Cedeño Alejandro, 2012; Lance, 2012).

El proceso de elaboración en nuestro tema de investigación es importante por la incorporación de los distintos edulcorantes no calóricos en concentraciones recomendadas por la FDA (Mera Alvarado & Cedeño Alejandro, 2012).

Figura 1. Flujograma de elaboración de bebidas gaseosas. **Fuente:** (Mera Alvarado & Cedeño Alejandro, 2012).



En el recuadro rojo se indica la adición de azúcar al jarabe pero para las bebidas tipo light se reemplaza dicha azúcar por el edulcorante de elección.

1.5 Aspartame

1.5.1 Definición

El Aspartame es uno de los edulcorantes no calóricos más usados; se trata de un dipéptido formado por los aminoácidos fenilalanina y ácido aspártico. Se caracteriza por ser 200 veces más dulce que el azúcar de mesa o sacarosa. Se encuentra en aproximadamente 6000 productos como bebidas gaseosas, goma de mascar, jugos de frutas, gelatinas y jaleas (ACS, 2013).

La FDA ha establecido una Ingesta Diaria Admisible (IDA), que hace referencia a la cantidad de aditivo que puede ser consumido de forma segura por una persona a diario durante su vida sin causar daño. En el caso del Aspartame es de 40 mg/kg por día y según la norma CODEX STAN (192-1995), 600 mg/kg en bebidas gaseosas (Calzada, Ruiz, Altamirano, & Padrón, 2013; CODEX STAN 192-1995, 2016)

Experimentalmente en ratas y ratones, se determinó que la administración de bolos únicos con altas dosis de Aspartame, puede causar aumento de la concentración de aminoácidos en plasma y neurotransmisores en el sistema nervioso central pero no producen efectos adversos ni daños fisiológicos incluso a dosis de 4000 mg/kg/día (Calzada et al., 2013).

El Aspartame es el edulcorante comúnmente usado por diabéticos. En la Unión Europea tiene el código E951 (PubChem, 2013).

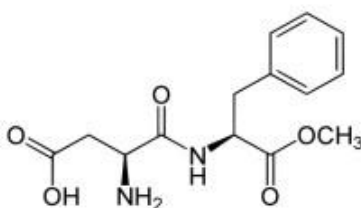


Figura 2: Estructura química del Aspartame. Fuente: (PubChem, 2013)

1.5.2 Propiedades físico químicas

El Aspartame es un polvo blanco, cristalino, inodoro, de sabor dulce. Su nombre químico es N-L- α -aspartil-L-fenilalanina-1-metil éster; tiene propiedades tanto hidrofílicas como hidrofóbicas; se conoce con algunos nombres comerciales tales como Equal® y NutraSweet® que son los más conocidos en nuestro medio (Calzada et al., 2013).

Su fórmula molecular es $C_{14}H_{18}N_2O_5$, cuyo peso molecular es 294.307 g/mol. Presenta un punto de fusión de 246°C. Su solubilidad en agua depende del pH y la temperatura, la máxima solubilidad se consigue a pH de 2,2 a 25°C y la mínima a pH de 5.2 a 25°C; es ligeramente soluble en alcohol, poco soluble en cloroformo y prácticamente insoluble en aceites (PubChem, 2013).

Es estable en condiciones de sequedad, la presencia de humedad (mayor al 8%) puede causar hidrólisis de sus componentes (fenilalanina y ácido aspártico) con pérdida de su sabor dulce ya que se forman compuestos conocidos como dicetopiperazina; en soluciones acuosas, se logra mayor estabilidad tras la adición de polietilenglicol 400 a pH de 2,2. Un tratamiento térmico prolongado puede degradar al Aspartame, esto se puede corregir con tratamientos térmicos cortos y enfriamientos rápidos (PubChem, 2013).

1.5.3 Metabolismo

El metabolismo del Aspartame se realiza cuando este compuesto es atacado en el intestino delgado por enzimas intestinales como enterasas y peptidasas que la hidrolizan y separan en sus componentes: fenilalanina (60%), ácido aspártico (30%) y metanol (10%) y de esta forma pasan hacia el torrente sanguíneo. Estudios han demostrado que el Aspartame jamás ingresa como tal a la circulación, puesto que se degrada inmediatamente tras su ingesta (Acuña Tuesta, 2014).

En personas sanas, la fenilalanina se metaboliza a tirosina pero en personas con fenilcetonuria que carecen de la enzima fenilalanina hidroxilasa, la fenilalanina se transforma en fenilpiruvato, compuesto capaz de provocar daños en el sistema nervioso como daño cerebral o retardo mental permanente; por ello las personas con fenilcetonuria deben evitar el consumo de Aspartame (Acuña Tuesta, 2014; Magnuson, 2011).

El metanol formado durante el metabolismo de Aspartame se encuentra en bajas concentraciones, lo que representa un riesgo potencial puesto que su dosis letal es de 100 mg/kg. El metanol se transforma en formaldehído y posteriormente en ácido fórmico que permanece en el organismo por un tiempo más prolongado y puede causar daños en la

salud de los consumidores cuando se encuentra en elevadas concentraciones (Magnuson, 2011).

Según Gianuzzi y Molina (1995), el Aspartame presenta efectos secundarios neuropsíquicos como dolor de cabeza, insomnio, irritabilidad, y cuando se consume en dosis elevadas puede provocar inhibición del supresor del apetito (Guerrero & Mora, 2014).

En una carta escrita para el Diario Western de Medicina en 1999, se sugirió una relación entre el Aspartame y el cáncer de mama y próstata, debido a que, durante su metabolismo, se convierte en metanol y posteriormente en formaldehído que se acumula en las células e induce cáncer.

El Centro de Investigación del Cáncer Cesare Maltoni de la Fundación Europea Ramazzini realizó un ensayo con 1800 ratas a las que se les administró diariamente dosis de 100000, 50000, 10000, 2000, 400, 80 y 0 ppm hasta la muerte de los animales, practicando posteriormente una necropsia y encontrando un aumento en la incidencia de tumores malignos, linfomas y leucemias, así como carcinoma de la pelvis renal y uréteres (Guerrero & Mora, 2014).

En el 2011, científicos del Instituto Ramazzini solicitaron a la FDA se realice una reevaluación del efecto tóxico del Aspartame, obteniéndose por tanto un NOAEL (Nivel sin efecto adverso observable) de 40000 mg/Kg de peso al día, además se atribuye a la fenilalanina (producto de degradación del Aspartame) como posible causante de desarrollo de toxicidad a niveles plasmáticos elevados (Guerrero & Mora, 2014).

Se realizó un estudio en la Facultad de Medicina de la Universidad Harvard en el año 2016 en donde se relaciona el consumo de Aspartame con intolerancia a la glucosa y obesidad en ratones, esto se da por la presencia de fenilalanina como producto de la hidrólisis del edulcorante puesto que este aminoácido tiene la capacidad de inhibir la enzima fosfatasa alcalina intestinal (FAI) capaz de prevenir el síndrome metabólico en ratones (Gul et al., 2016).

En ese mismo año en la Universidad de Harvard, se realizó un estudio agudo; administrando a los ratones agua sin Aspartame para el grupo control, y con Aspartame para el grupo de estudio, los resultados fueron la reducción en un 50% de la actividad de la FAI. En un estudio crónico, se tomaron dos grupos de ratones, al primer grupo (A) se trató

con una dieta alta en grasa y agua con Aspartame mientras que al segundo grupo (B) con comida alta en grasa y agua simple, al cabo de 18 semanas se observó que el grupo A aumentó de peso 48.1 gramos frente a 42.4 gramos del grupo control, además de presentar mayor intolerancia a la glucosa (1,23 veces mayor que en el grupo B). Con esto, se concluye que los efectos protectores de la FAI pueden ser inhibidos por la fenilalanina lo que podría explicar la falta de pérdida de peso que se espera tras el consumo de bebidas dietéticas (Gul et al., 2016).

1.5.4 Métodos de cuantificación

La pureza del Aspartame puede ser determinada por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), cromatografía en capa fina, rotación óptica, y espectrofotometría UV (PubChem, 2013).

1.6 Acesulfame de potasio

1.6.1 Definición

Es un edulcorante artificial no calórico, derivado potásico de los ácidos acetoacético y sulfámico. Es aproximadamente 200 veces más dulce que el azúcar, se usa frecuentemente combinado con otros edulcorantes para intensificar el dulzor y disminuir su sabor amargo. Se encuentra presente en bebidas gaseosas, productos lácteos, néctares, gomas de mascar, y en algunos productos farmacéuticos. Son comercializados bajo distintos nombres como Sunett®, Sweet One®, Swiss Sweet® (Calzada et al., 2013; Sánchez, 2014).

Su IDA, establecida por la FDA, es de 15 mg/Kg de peso al día y la concentración en bebidas gaseosas que registra la norma CODEX STAN (192-1995), es de 600 mg/Kg (CODEX STAN 192-1995, 2016)

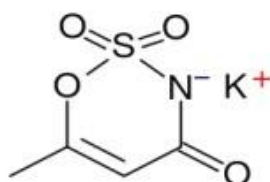


Figura 3. Estructura química del Acesulfame de potasio. **Fuente:** (Calzada et al., 2013)

1.6.2 Propiedades fisicoquímicas

El Acesulfame de potasio es un polvo blanco, cristalino, inodoro. Soluble en agua y ligeramente soluble en etanol.

Su fórmula es 5,6-dimetil-1, 2, 3-oxatizaina-4(3H)-ona-2,2 dióxido y su fórmula molecular es $C_4H_4KNO_4S$; tiene un peso molecular de 201.23 g/mol (NIH, 2013).

1.6.3 Metabolismo

No se metaboliza en el organismo, se excreta por los riñones sin sufrir cambios químicos. Si se presenta en cantidades excesivas, tiende a dejar un sabor residual en la bebida que se encuentra (Cuellar & Funes, 2013).

Los científicos A. Mukherjee y J. Chakrabarti del Centro de Estudios Avanzados sobre Células y cromosomas de la Universidad de Calcuta, India, realizaron un estudio citogenético en el año de 1997, en el cual se buscó determinar genotoxicidad y clastogenicidad del Acesulfame de potasio. Los resultados obtenidos demostraron que, a dosis desde 15 a 2250 mg/kg de peso, había una marcada clastogenicidad aun cuando se había determinado segura una dosis de 1500 a 3000 mg/kg de peso (Mukherjee & Chakrabarti, 1998).

En el año 2000, los investigadores anteriormente mencionados realizaron un estudio en conjunto con M. Mukhopadhyay; esta vez se buscó conocer si el uso de Aspartame y Acesulfame de potasio causaban sinergismo genotóxico en ratones. Se administró por sonda dosis de Aspartame (3.5, 35, 350 mg/kg de peso corporal) y Acesulfame de potasio (1.5, 15 y 150 mg/kg). Tras analizar células de la médula ósea, no se observaron alteraciones genéticas por lo que se concluyó que el Aspartame en conjunto con Acesulfame de potasio no son significativamente genotóxicos (Mukhopadhyay, Chakrabarti, & Mukherjee, 2000).

A. Bandyopadhyay, S. Ghoshal & A. Mukherjee, en el año 2008 realizaron un estudio denominado "Pruebas de Genotoxicidad de Edulcorantes Bajo Calorías: Aspartame, Acesulfame de potasio y Sacarina". Se probó la mutagenicidad mediante ensayos Ames/Salmonella/microsoma, esta técnica usa cepas de *Salmonella typhimurium* modificadas genéticamente para detectar compuestos capaces de provocar mutaciones genéticas, ya sea por un cambio en el cuadro de lectura o sustitución de pares de bases en el ADN. La genotoxicidad se probó con una electroforesis alcalina que detecta las rupturas

de la cadena de ADN tras ser expuesta a determinadas sustancias (Bandyopadhyay, Ghoshal, & Mukherjee, 2008; Rodriguez, Noris, & Fundora, 2016; Mortelmans & Zeiger, 2012).

Se administraron dosis de Aspartame de 7, 14, 28 y 35 mg/kg de peso corporal, Acesulfame de potasio 150, 300 y 600 mg/kg de peso corporal y sacarina 50, 100 y 200 mg/kg de peso corporal en ratones y se mantuvo a la vez un grupo control. Los animales fueron sacrificados y se analizaron células de la médula ósea, observándose que Acesulfame de potasio y sacarina inducen a un mayor daño de ADN que Aspartame pero ninguno demostró ser mutagénico (Bandyopadhyay et al., 2008).

2. METODOLOGÍA

2.1 Tipo de estudio

Se trata de un estudio cuantitativo, analítico de diseño transversal y de tipo descriptivo.

2.2 Área de estudio

- Universo: Bebidas gaseosas con edulcorantes no calóricos expendidos en la ciudad de Cuenca
- Muestra: Bebidas gaseosas con edulcorantes no calóricos (Aspartame y Acesulfame de potasio), en presentaciones entre 250 – 500 ml, expendidos en los supermercados de la ciudad de Cuenca.

2.3 Muestreo

Se realizó un muestreo probabilístico, aleatorio estratificado, en el cual se realizó una visita a los supermercados de la Ciudad en los cuales se encontraron dieciséis marcas de gaseosas con Aspartame y Acesulfame de potasio.

Los supermercados de los cuales se tomaron las muestras fueron los cuatro con mayor afluencia en la Ciudad; que, según un estudio realizado en la Universidad del Azuay, son: Supermaxi, Coral Hipermercados, Almacenes Tía, y Megatienda del Sur; pues en estos se encontraron las mismas marcas que en los supermercados más pequeños. De los supermercados escogidos, hay varias sucursales, razón por la cual se realizó un muestreo aleatorio de las mismas, con el fin de tomar las muestras de una sucursal específica (Mata Hernández, 2013).

Los puntos de muestreo fueron:

- Punto de Muestreo 1: Supermaxi (Alfonso Cordero Palacios Esquina y Manuel J. Calle).
- Punto de Muestreo 2: CoralHipermercados (Mariscal Sucre 1-73 y Av. Huayna Capac)
- Punto de Muestreo 3: Almacenes Tía (Gran Colombia 733 entre Presidente Borrero y Luis Cordero).
- Punto de Muestreo 4: Megatienda del Sur (Av. de las Américas y Cornelio Crespo).

Se tomó una muestra de cada marca de bebida gaseosa por supermercado, registrando el

lote. Todas las muestras fueron tomadas de anaquel, es decir a temperatura ambiente, con el fin de tener una muestra homogénea. Obteniendo un total de sesenta y cuatro muestras, es decir ciento veinte y ocho análisis. Además se realizaron las lecturas por triplicado.

Tabla 1: Plan de muestreo

Punto de Muestreo 1 ¹⁶	Punto de Muestreo 2 ¹⁶
Punto de Muestreo 3 ¹⁶	Punto de Muestreo 4 ¹⁶

Las bebidas que se incluyeron en este estudio fueron:

- Coca Cola Zero 500 ml
- Coca Cola Light 500 ml
- Pepsi Zero 400 ml
- Pepsi Light 400 ml
- Sprite Zero 400 ml
- Inca Cola 400 ml
- Cola Gallito 400 ml
- Manzana 360 ml
- Tropical 360 ml
- Big Cola 360 ml
- Quíntuples 355 ml
- American Cola 400 ml
- Cola oro 360 ml
- Orangine 400 ml
- Cola Más 400 ml
- 7up 400 ml

Criterios de inclusión: se incluyeron todas las bebidas gaseosas con Aspartame y Acesulfame de potasio, en presentaciones de 250-500 ml.

Criterios de exclusión: se excluyeron todas aquellas bebidas gaseosas y no gaseosas que no contengan Aspartame y Acesulfame de potasio.

2.4 Variables

Tabla 2: Variables de estudio

Variable	Concepto	Dimensión	Indicador
Concentración de edulcorantes no calóricos	Cantidad de edulcorantes no calóricos (Aspartame y Acesulfame de potasio) presentes en las bebidas gaseosas.	mg/l	Cálculo de la IDA.

2.5 Método espectrofotometría UV

2.5.1 Fundamento

La espectrofotometría es un método científico utilizado para estimar la concentración de un analito en soluciones. La espectrofotometría se basa fundamentalmente en la interacción entre la radiación electromagnética y la materia. La radiación electromagnética se caracteriza por una longitud de onda, frecuencia y energía (Gutiérrez & Otero, 2014).

Por definición, la radiación visible al ojo humano es la parte visible del espectro electromagnético pero existen otros sistemas de detección que van más allá de lo observable, son regiones del espectro que se clasifican como microondas, radioondas, infrarrojo, ultravioleta, rayos-X y rayos-γ (Owen, 2012).

2.5.2 Espectrofotometría UV- visible

La radiación ultravioleta se encuentra comprendida en una longitud de onda entre 100 y 800 nm; siendo el campo visible de los colores en una longitud de onda de 380-780 nm. La interacción de la radiación con la materia genera transiciones electrónicas entre orbitales atómicos, en este caso, una especie química (monoatómica o ion complejo) absorbe energía que causa la transición de un electrón de un estado basal a un estado excitado; la energía de la transición se relaciona con la longitud de onda de la radiación (Owen, 2012).

La absorción depende de la estructura de las moléculas, y es característica para cada sustancia química; solo absorben radiación en el UV-visible aquellas sustancias que presenten un cromóforo como grupos cetonas, aldehídos, carboxilos, etilenos, entre otras especies químicas. En el caso del Aspartame y Acesulfame de potasio, presentan grupos funcionales amida y sulfóxido respectivamente, encontrándose su mayor absorbancia en una longitud de onda de 210 – 215 nm (Owen, 2012).

2.6 Extracción y Análisis por espectrofotometría UV-visible

2.6.1 Materiales, equipos y reactivos

2.6.1.1 Materiales

- Balones de aforo 1000, 500, 250, 100, 50 ml.
- Pipetas serológicas de 5 y 10ml.
- Tubos de ensayo tapa rosca 15ml
- Embudo de separación de 125ml.
- Probetas de 50 ml.
- Cápsulas de porcelana
- Vasos de precipitación de 250 y 600 ml.
- Embudo caña corta
- Soporte para embudos
- Varillas de agitación
- Espátulas

2.6.1.2 Equipos

- Balanza analítica, MARCA: METTLER TOLEDO, MODELO: AB204, SERIE: 1113112088.
- Estufa, MARCA: MEMMERT, MODELO: TV30 SL, SERIE: 812353.
- Espectrofotómetro de UV y luz visible, MARCA: CIBA-CORNING, MODELO: 2800 ESPECTRASCAN, SERIE: UDO2076-1 (Ver Anexo 12).

2.6.1.3 Reactivos

- Éter etílico
- Ácido sulfúrico al 50% (Preparación: Ver anexo 1).
- Hidróxido de Sodio al 50% (p/v) (Preparación: Ver anexo 1).
- Etanol al 99%
- Acetato de etilo
- Agua destilada

2.6.2 Preparación de estándares y Curvas de calibración

2.6.1 Curva de calibración Acesulfame de potasio

Para preparar la curva de calibración, se usó el patrón de SIGMA ALDRICH, lote

LRAA9064, cuya pureza fue de 99,96%.

- Se disolvió 0.5 g de Acesulfame de potasio con 10 ml de agua destilada
- Se aforó a 500 ml obteniendo una solución madre de 1000 partes por millón (ppm).
- Se prepararon soluciones de 500, 250, 100, 50, 25, 10 y 5 ppm a partir de la solución madre. (Ver preparación en Anexo 2)
- Se realizaron las respectivas lecturas y se construyó la curva de calibración. (Ver Anexo 4)

2.6.1.1 Curva de calibración Aspartame

Para preparar la curva de calibración, se usó el patrón de SIGMA ALDRICH, lote LRAB3060, cuya pureza fue de 99,3%.

- Se disolvió 0.5 g de Aspartame con 10 ml de etanol al 99%.
- Se aforó a 500ml obteniendo una solución madre de 1000 partes por millón (ppm).
- Se prepararon soluciones de 500, 250, 100, 50, 25, 10 y 5 ppm a partir de la solución madre. (Ver preparación en Anexo 3)
- Se realizaron las respectivas lecturas y se construyó la curva de calibración. (Ver Anexo 5)

2.7 Extracción y lectura de muestras

2.7.1 Extracción de Acesulfame de potasio

- Se colocaron 25 ml de bebida en un embudo de separación.
- Se añadieron 5ml de ácido sulfúrico al 50% y se dejó enfriar a temperatura ambiente.
- Se agregaron dos porciones de 25 ml de éter etílico, se descartó la capa acuosa.
- A la capa etérea se añadió 5 ml de hidróxido de sodio al 50% (p/v) y se dejó enfriar a temperatura ambiente.
- Se añadieron tres porciones de etanol al 99%, descartándose la capa etérea
- El extracto se llevó a la estufa a 40°C y se evaporó a sequedad.
- El residuo se disolvió con 12.5 ml de agua destilada (Procedimiento gráfico: Ver Anexo 10).

2.7.2 Cuantificación de Acesulfame de potasio en espectrofotómetro ultravioleta

- Se realizó un barrido en el que se colocó agua destilada en la celda de referencia y la solución de 25 partes por millón (ppm) en la celda de muestra.
- Se determinó a una longitud de onda de 210 nm

- c) Se realizaron las lecturas de los extractos de Acesulfame de potasio por triplicado y se anotaron las lecturas correspondientes.

2.7.3 Extracción de Aspartame

- a) Se colocaron 25 ml de bebida en un embudo de separación
- b) Se añadieron 5 ml de ácido sulfúrico al 50% y se dejó enfriar a temperatura ambiente
- c) Se agregaron dos porciones de 25 ml de éter etílico, se descartó la capa etérea.
- d) A la capa acuosa se añadió 5 ml de hidróxido de sodio al 50% (p/v) y se dejó enfriar a temperatura ambiente.
- e) Se añadieron dos porciones de acetato de etilo, descartándose la capa acuosa
- f) Se filtró a través de papel filtro previamente remojado con acetato de etilo.
- g) El filtrado se llevó a la estufa a 40°C y se evaporó a sequedad.
- h) El residuo se disolvió con 12.5 ml de etanol al 99% (Procedimiento gráfico: Ver Anexo 11).

2.7.4 Cuantificación de Aspartame en espectrofotómetro ultravioleta

- a) Se realizó un barrido en el que se colocó etanol al 99% en la celda de referencia y la solución de 25 partes por millón (ppm) en la celda de muestra.
- b) Se determinó una longitud de onda de 212 nm
- c) Se realizaron las lecturas de los extractos de Aspartame por triplicado y se anotaron las lecturas correspondientes.

2.8 Análisis Estadístico

Los resultados se presentan con una medida de tendencia central tal como Media; además, se realizó un análisis estadístico descriptivo que incluyó Desviación Estándar, Desviación Estándar Relativa y Coeficiente de Variación.

También se llevaron a cabo pruebas estadísticas como t-Student de una cola y análisis de varianzas (ANOVA) para encontrar diferencias estadísticamente significativas con la concentración máxima establecida y entre los puntos de muestreo respectivamente.

Para estos fines se trabajó con el programa estadístico IBM SPSS Statistics 19.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Cuantificación de Acesulfame de potasio

Se presentan los datos empleados para el desarrollo de la curva de calibración (Anexo 4), a partir de las lecturas de absorbancia de concentraciones en un rango de 5 a 100 ppm. La absorbancia registrada es el promedio de tres repeticiones, ($R^2 = 0.9793$).

Tabla 3: Valores de concentración y absorbancia correspondientes a estándares de Acesulfame de potasio mediante espectrofotometría UV.

Concentración (ppm)	0	5	10	25	50	100
Absorbancia (nm)	0	0.141	0.306	0.644	1.1018	1.77

3.2 Cuantificación de Aspartame

La curva de calibración del Aspartame (Anexo 5) se realizó bajo las mismas condiciones explicadas anteriormente, y se obtuvo un coeficiente de correlación (R^2) de 0.9742. Las absorbancias obtenidas fueron:

Tabla 4: Valores de concentración y absorbancia correspondientes a estándares de Aspartame mediante espectrofotometría UV.

Concentración (ppm)	0	5	10	25	50	100
Absorbancia (nm)	0.006	0.165	0.318	0.725	1.187	1.872

3.3 Estadística descriptiva

Las medias de concentración expresadas se encuentran en mg/l (ppm) y para poder comparar con la norma CODEX STAN (192-1995), se asume que es equivalente a mg/kg puesto que se tratan de soluciones acuosas.

Tabla 5: Desviación estándar de medias de concentración (ppm) de Acesulfame de potasio en bebidas gaseosas

Producto	Punto de Muestreo 1	Punto de Muestreo 2	Punto de Muestreo 3	Punto de Muestreo 4	Media ppm (n=12)	Desviación Estándar
Manzana	63,707	63,669	63,650	63,707	63,683	0,029
Pepsi Zero	91,669	91,688	91,707	91,707	91,693	0,018
Pepsi Light	103,878	103,840	103,840	103,840	103,850	0,019
Gallito	61,230	61,211	61,250	61,211	61,226	0,019
Orangine	63,859	63,821	63,878	63,859	63,854	0,024
Quintuples	57,154	57,135	57,135	57,097	57,130	0,024
Coca Light	91,116	91,154	91,135	91,097	91,126	0,025
Big Cola	88,545	88,507	88,507	88,526	88,521	0,018
American Cola	83,745	83,764	83,745	83,726	83,745	0,016
7 UP	71,745	71,726	71,726	71,688	71,721	0,024
Sprite Zero	35,383	35,421	35,383	35,364	35,388	0,024
Coca Zero	81,973	82,011	81,916	81,973	81,968	0,039
Oro	60,888	60,869	60,926	60,869	60,888	0,027
Inca Cola	91,783	91,783	91,764	91,802	91,783	0,016
Tropical	64,850	64,869	64,850	64,850	64,855	0,010
Cola Más	63,211	63,211	63,173	63,192	63,197	0,018

Los cálculos de las concentraciones se llevaron a cabo con la ecuación de la recta, como se indica en el Anexo 4.

Las medias de concentración calculadas tienen valores similares en los cuatro puntos de muestreo; la Desviación Estándar se encuentra dentro de los límites $\pm 3\%$ por tanto no hay dispersión de concentraciones. Además se analizaron otros parámetros como Desviación Estándar Relativa y Coeficiente de Variación que complementan la estadística descriptiva, mismas que no varían en $\pm 15\%$ y $\pm 10\%$ respectivamente (Anexo 9).

Se pueden observar las absorbancias obtenidas tras el análisis en el Anexo 8.

Tabla 6: Máximos y mínimos de concentración (ppm) de Acesulfame de potasio en bebidas gaseosas.

Acesulfame de potasio	Punto de Muestreo 1	Punto de Muestreo 2	Punto de Muestreo 3	Punto de Muestreo 4	Media (ppm) (n=12)	Desviación Estándar
Máximo (ppm)	103.878	103.840	103.840	103.840	103.850	0.019
Mínimo (ppm)	35.383	35.421	35.383	35.364	35.388	0.024

Los valores que se presentan en la tabla 6 corresponden: la mayor concentración de Acesulfame de potasio vista en la tabla 5 a “Pepsi Light” y la menor concentración a “Sprite Zero”.

Tabla 7: Desviación estándar de medias de concentración (ppm) de Aspartame en bebidas gaseosas

Producto	Punto de Muestreo 1	Punto de Muestreo 2	Punto de Muestreo 3	Punto de Muestreo 4	Media ppm (n=12)	Desviación Estándar
Manzana	118,734	118,734	118,697	118,734	118,725	0,018
Pepsi Zero	113,317	113,281	113,335	113,299	113,308	0,023
Pepsi Light	121,252	121,216	121,216	121,234	121,230	0,017
Gallito	120,889	120,908	120,926	120,871	120,899	0,024
Orangine	126,886	126,904	126,886	126,886	126,891	0,009
Quintuples	122,538	122,574	122,574	122,574	122,565	0,018
Coca Light	118,734	118,697	118,752	118,752	118,734	0,026
Big Cola	127,139	127,158	127,158	127,103	127,140	0,026
American Cola	125,908	125,871	125,908	125,871	125,890	0,021
7 UP	121,071	121,017	121,089	121,053	121,057	0,031
Sprite Zero	132,447	132,466	132,447	132,447	132,452	0,010
Coca Zero	120,473	120,509	120,491	120,491	120,491	0,015
Oro	130,781	130,817	130,726	130,745	130,767	0,040
Inca Cola	115,147	115,129	115,183	115,183	115,161	0,027
Tropical	119,911	119,947	119,893	119,875	119,907	0,031
Cola Más	143,716	143,697	143,697	143,679	143,697	0,015

Los cálculos de las concentraciones se llevaron a cabo con la ecuación de la recta, como se indica en el Anexo 5.

Las medias de concentración calculadas tienen valores similares en los cuatro puntos de muestreo; la desviación estándar se encuentra dentro de los límites $\pm 3\%$ por tanto no hay dispersión de concentraciones. Además se analizaron otros parámetros como Desviación Estándar Relativa y Coeficiente de Variación que complementan la estadística descriptiva, mismas que no varían en $\pm 15\%$ y $\pm 10\%$ respectivamente (Anexo 7).

Se pueden apreciar las absorbancias que se obtuvieron tras el análisis en el Anexo 6.

Tabla 8: Máximos y mínimos de concentración (ppm) de Aspartame en bebidas gaseosas

Aspartame	Punto de Muestreo 1	Punto de Muestreo 2	Punto de Muestreo 3	Punto de Muestreo 4	Media (ppm) (n=12)	Desviación Estándar
Máximo (ppm)	143.716	143.697	143.697	143.679	143.697	0.015
Mínimo (ppm)	113.317	113.281	113.335	113.299	113.308	0.023

Los valores que se presentan en la tabla 8 corresponden: la mayor concentración de Aspartame vista en la tabla 7 a cola “Más” y la menor concentración a “Pepsi Zero”.

Tabla 9: Cálculo de concentración en miligramos de Aspartame y Acesulfame de potasio por botella de bebida gaseosa

Producto	Volumen ml	Acesulfame de potasio		Aspartame	
		Media n=12 (ppm)	Miligramos /botella	Media n=12 (ppm)	Miligramos /botella
Manzana	360	63,683	22,926	118,725	42,741
Pepsi Zero	400	91,693	36,677	113,308	45,323
Pepsi Light	400	103,850	41,540	121,230	48,492
Gallito	400	61,226	24,490	120,899	48,359
Orangine	400	63,854	25,542	126,891	50,756
Quintuples	355	57,130	20,281	122,565	43,511
Coca Light	500	91,126	45,563	118,734	59,367
Big Cola	360	88,521	31,868	127,140	45,770

American Cola	400	83,745	33,498	125,890	50,356
7 UP	400	71,721	28,689	121,058	48,423
Sprite Zero	400	35,388	14,155	132,452	52,981
Coca Zero	500	81,968	40,984	120,491	60,246
Oro	360	60,888	21,920	130,767	47,076
Inca Cola	400	91,783	36,713	115,161	46,064
Tropical	360	64,855	23,348	119,907	43,166
Cola Más	400	63,197	25,279	143,697	57,479

Al comparar la IDA de Aspartame (40 mg/kg) en hombres adultos de 19 a 59 años de edad, con un peso promedio de 71,9 kg, se admite un consumo de 2876 mg de Aspartame por día; como se puede observar en la tabla 7, una persona debería consumir aproximadamente 24 botellas de 500 ml de Coca Cola Zero para exceder la IDA establecida; caso similar se observa en mujeres dentro del mismo rango de edad con un peso promedio de 63,9 kg, que pueden consumir 2556 mg de Aspartame por día, representando aproximadamente 22 botellas de 500 ml de Coca Cola Zero (ENSANUT, 2012).

Considerando las mismas condiciones anteriores para el caso del Acesulfame de potasio, cuya IDA es 15 mg/kg un adulto hombre puede consumir aproximadamente 1078,5 mg por día, que representarían 13 botellas de 500 ml de Coca Cola Zero para exceder la IDA establecida; entre tanto, en el caso de mujeres adultas, pueden consumir 958.5 mg al día, que se encuentran en alrededor de 12 botellas de Coca Cola Zero (ENSANUT, 2012).

3.4 Comparación de valores experimentales con la norma CODEX STAN (192- 1995)

Para establecer diferencias significativas entre los valores obtenidos experimentalmente con los ya establecidos en la norma *CODEX STAN (192-1995)*, se aplicó una prueba t-Student de una cola.

A continuación se presentan los valores de t calculados para 12 repeticiones con 11 grados de libertad, cuyo valor teórico es $t(0.05; 11) = 1.756$. Las hipótesis se plantearon de la siguiente manera:

Si el valor de t calculado es menor que el valor de t tabulado, se acepta la hipótesis nula que plantea que la media de concentración no excede el límite establecido en la norma *CODEX STAN (192-1995)* que es de 600 mg/kg de producto tanto para el Acesulfame de

potasio como para Aspartame

Si el valor de t calculado es mayor que el valor de t tabulado, se acepta la hipótesis alternativa que indica que la media de concentración excede el límite permitido en la norma mencionada anteriormente.

Tabla 10: Comparación de valores experimentales con la norma CODEX STAN (192-1995) mediante prueba t - Student

Producto	Acesulfame de potasio	Aspartame	Decisión
	$t_{\text{calculado}}$	$t_{\text{calculado}}$	
Manzana	-65187.92	-90118.182	El valor se encuentra en norma
Pepsi Zero	-96796.04	-72551.760	El valor se encuentra en norma
Pepsi Light	-90458.72	-96236.491	El valor se encuentra en norma
Gallito	-100191.97	-69863.494	El valor se encuentra en norma
Orangine	-77684.38	-182099.931	El valor se encuentra en norma
Quintuples	-78658.65	-91882.409	El valor se encuentra en norma
Coca Light	-71865.98	-64299.948	El valor se encuentra en norma
Big Cola	-97399.99	-63172.976	El valor se encuentra en norma
American Cola	-115278.13	-76882.784	El valor se encuentra en norma
7 UP	-76544.50	-53970.706	El valor se encuentra en norma
Sprite Zero	-81809.01	-170487.858	El valor se encuentra en norma
Coca Zero	-45814.08	-113021.355	El valor se encuentra en norma
Oro	-69502.60	-40382.009	El valor se encuentra en norma
Inca Cola	-113483.27	-62204.937	El valor se encuentra en norma
Tropical	-195136.58	-54100.409	El valor se encuentra en norma
Cola Más	-102222.49	-104625.685	El valor se encuentra en norma

Se concluye que las concentraciones cumplen con la norma pues en la prueba t -Student aplicada los valores de t calculados no superaron el valor de $t_{(0,05; 11)} = 1.756$.

3.5 Comparación de concentraciones en los puntos de muestreo

Para realizar una comparación de las concentraciones de las bebidas gaseosas en los cuatro puntos de muestreo, se aplicó un análisis de varianzas (ANOVA).

Tabla 11: Comparación de concentraciones en los puntos de muestreo mediante análisis de varianzas (ANOVA)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0019218	3	0.00064059	2.0431 8E-06	0.99999 9	2.75807829 6
Dentro de los grupos	18811.588	60	313.5264667			
Total	18811.589	63				

En base al análisis de varianzas (ANOVA), tabla 11, se observa un valor de $p = 0.999999$, podemos concluir que las bebidas gaseosas expendidas en los cuatro puntos de muestreo no presentan diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la concentración tanto de Acesulfame de potasio como de Aspartame.

La cantidad de botellas establecida anteriormente es aparentemente excesiva; sin embargo, se debe considerar que hoy en día, no solo se encuentran estos edulcorantes no calóricos en las bebidas gaseosas, sino también en productos de consumo diario como: chicles, yogurts, jugos naturales bajos en calorías, bebidas energizantes, aguas saborizadas, barras nutricionales, cereales, leche y bebidas a base de té; por lo tanto, el aporte de Aspartame y Acesulfame de potasio puede provenir de distintas fuentes, razón por la cual se debe controlar el consumo de este tipo de productos pues es complicado establecer una ingesta diaria en función a todos los productos ingeridos en el día (Bergtholdt, 2012).

Se ha cuantificado Aspartame y Acesulfame de potasio por otras técnicas admitidas en la farmacopea USP; como la realizada en la Universidad de Jaén, por HPLC, y en comparación con las concentraciones determinadas por espectrofotometría UV- visible en este estudio, los valores se encuentran dentro de norma para las dos técnicas. Considerando así que la técnica aplicada es un método óptimo para dicha cuantificación, y de bajo costo en comparación con el HPLC (Joyanes Cárdenas, 2014).



4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Las bebidas gaseosas cumplen con los valores permitidos de Aspartame y Acesulfame de potasio establecidos en la norma CODEX STAN (192-1995) puesto que las concentraciones obtenidas se encuentran por debajo de 600 mg/kg de producto.
- El método de espectrofotometría UV-visible es viable para la cuantificación de estos edulcorantes.
- El consumo de bebidas gaseosas en sí, no sobrepasa la IDA establecida por la FDA.



4.2 Recomendaciones

- Se recomienda dar continuidad al estudio, trabajando con los mismos productos, aplicando el método HPLC, con el fin de establecer una comparación entre las metodologías y crear una base de datos de edulcorantes no calóricos en el país, pues no existen estudios respecto al tema.
- Sería recomendable realizar un estudio de la presencia o ausencia de sacarosa así como la determinación de carbohidratos totales en estas bebidas gaseosas, con la finalidad de corroborar su etiquetado como productos bajos en calorías.



ABREVIATURAS

INEC: Instituto Ecuatoriano De Estadísticas Y Censos

OMS: Organización Mundial De La Salud

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organización de las Naciones Unidas Para la Alimentación y la Agricultura)

IDA: Ingesta Diaria Admisible

FDA: Food and Drug Administration (Administración de Alimentación y Medicamentos)

USP: United States Pharmacopeia (Farmacopea de los Estados Unidos)

INEN: Instituto Ecuatoriano de Normalización

NOAEL: No Observed Adverse Effect Level (Nivel sin efecto adverso observable)

FAI: Fosfatasa Alcalina Intestinal

HPLC: High-Performance Liquid Chromatography (Cromatografía Líquida De Alta Eficacia)

ADN: Ácido desoxirribonucleico

REM: Radiación Electromagnética

PPM: Partes Por Millón

REFERENCIAS

- ACS. (2013). *American Cancer Society: Aspartame* Recuperado el 17 de mayo de 2017, de: <https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/aspartame.html>
- Acuña Tuesta, M. (2014). *Universidad Autónoma de Barcelona: Revisión de seguridad de Aspartame*: Recuperado el 21 de mayo de 2017, de https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2013/123821/TFG_macunatuesta.pdf
- ARCSA. (2016). *Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria: de RESOLUCIÓN ARCSA-DE-00X-2016-YMIH*. Recuperado el 27 de mayo de 2017, de: <http://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2016/10/PROYECTO-BORRADOR-ALIMENTOS-PARA-REGI%CC%81MENES-ESPECIALES-AUDIENCIAPU%CC%81BLICA.pdf>
- Bandyopadhyay, A., Ghoshal, S., & Mukherjee, A. (2008). Genotoxicity testing of low-calorie sweeteners: aspartame, acesulfame-K, and saccharin. *Drug Chem Toxicology*, 31(14), 447-457.
- Calzada, R., Ruiz, M., Altamirano, N., & Padrón, M. (2013). Características de los edulcorantes no calóricos y su uso en niños. *Instituto de pediatría de México*, 34(3).
- Codex Alimentarius. (2013). *Depósito de documentos de la FAO: Definiciones para los fines del Codex alimentarius*. Recuperado el 27 de mayo de 2017, de: <http://www.fao.org/docrep/w5975s/w5975s08.htm>
- CODEX STAN 192-1995. (2016). *Norma General para los Aditivos Alimentarios*. Recuperado el 27 de Septiembre de 2017, de http://www.fao.org/gsfaonline/docs/CXS_192s.pdf
- Dosal, M. A., & Villanueva, M. (2012). *Universidad Autónoma de México, Facultad de Química: Introducción a la metrología Química. Curvas de calibración en métodos analíticos*. Recuperado el 24 de junio de 2017, de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/CURVASDECALIBRACION_23498.pdf
- Durán, S., Córdón, K., & Rodríguez, P. (2013). Edulcorantes no nutritivos, riesgos, apetito y ganancia de peso. *Revista Chilena de Nutrición*, 40(3). Doi: 10.4067/S0717-75182013000300014
- ENSANUT. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición ecuatoriana de 0 a 59 años.

ENSANUT-ECU 2012, 1(1).

Euromonitor International. (Febrero de 2017). *Soft Drinks, Carbonates: Carbonates in Argentina* Recuperado el 27 de septiembre de 2017, de: <http://www.euromonitor.com/carbonates-in-argentina/report>

García Almeida, J., Casado, G., & García Alemán, J. (2013). Una visión global y actual de los edulcorantes. Aspectos de regulación. *Nutrición hospitalaria*, 28(4). doi:0212-1611.

Guerrero, T., & Mora, G. (2014). Posibles riesgos para la salud debido al consumo de aspartame. *Enfoque "Universidad Tecnológica Equinoccial"*, 5(2), 1-13.

Gul, S., Hamilton, A., Muñoz, A., Phupitakphol, T., Liu, W., Hyoju, S., . . . Hodin, R. (2016). Inhibition of the gut enzyme intestinal alkaline phosphatase may explain how aspartame promotes glucose intolerance and obesity in mice. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 42(1), 77-83. doi:10.1139/apnm-2016-0346.

Gutierrez, V., & Otero, J. (2014). *Research Gate: Espectroscopía Raman*. Recuperado el 7 de junio de 2017, de: https://www.researchgate.net/profile/Javier_Otero3/publication/280720782_Espectroscopia_Raman_Fundamento_y_aplicaciones/links/55c28a6108aeb975673e460b/Espectroscopia-Raman-Fundamento-y-aplicaciones.pdf

Harris, D. (2001). *Análisis Químico Cuantitativo*. España: Reverte.

Harvard, U. (2010). *The history of aspartame*. Recuperado el 13 de mayo de 2017, de https://dash.harvard.edu/bitstream/handle/1/8846759/Nill,_Ashley_-_The_History_of_Aspartame.pdf?sequence=3

INEC. (2012). *Instituto Ecuatoriano de Estadísticas y Censos: Infografía, defunciones en cifras* Recuperado el 17 de mayo de 2017, de: <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Infografias/DefuncionesOK.pdf>

Joyanes Cárdenas, V. (2014). Determinación de edulcorantes artificiales en bebidas.

Tesis de pregrado no publicada, *Universidad de Jaén*, Jaén.

Lance, A. W. (2012). Industria de las bebidas. *Enciclopedia de Salud y Seguridad en el trabajo*, 6-23.

Leonardo, R. L. (2012). Consumo de bebidas gaseosas en escolares de 10 a 12 años de la ciudad de Rosario. *Universidad Abierta Interamericana*, 18-25.

- Magnuson, B. (2011). *Academy of nutrition and dietetics: Aspartame, methanol and formaldehyde relationships*. Recuperado el 21 de mayo de 2017, de: <https://www.andean.org/topic.cfm?cat=4089>
- Mata Hernández, J. (2013). Análisis de las tendencias actuales de alimentos funcionales y la disponibilidad de los mismos en los principales supermercados de la Ciudad de Cuenca. Tesis de pregrado no publicada, *Universidad del Azuay*, Cuenca.
- Mera Alvarado, C., & Cedeño Alejandro, T. (2012). Producción más limpia en una embotelladora de bebidas gaseosas. Tesis de pregrado no publicada. *Universidad de Guayaquil*, Guayaquil.
- Miller, J., & Miller Jane. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. España: Prentice Hall.
- Mortelmans, K., & Zeiger, E. (2012). The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*, 455(2), 29-31.
- Mukherjee, A., & Chakrabarti, J. (1998). In vivo cytogenetic studies on mice exposed to acesulfame-K--a non-nutritive sweetener. *Food Chem Toxicology*, 35(12).
- Mukhopadhyay, M., Chakrabarti, J., & Mukherjee, A. (2000). In Vivo Cytogenetic Studies on Blends of Aspartame and Acesulfame-K. *Food Chem Toxicology*, 38(1), 75-77.
- NIH. (2013). *Acesulfame de potasio*. Recuperado el 20 de Julio de 2017, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/22245511#section=Information-Sources>
- Nikoleli, G. P., Asimakopoulos, A., & Nikolelis, D. (2012). Methods of Analysis of Acesulfame-K and Aspartame. En L. Nollet, & F. Toldrá, *Handbook of Analysis of Active Compounds in Functional Foods* (págs. 847-859). Florida: CRC Press.
- OMS. (2015). *Organización Mundial de la Salud: Las 10 principales causas de defunción*. Recuperado el 17 de mayo de 2017, de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/es/index1.html>
- Owen, T. (2012). *Fundamentals of UV visible spectroscopy*. Berlín: Hewlett-Packard.
- Pope, E., Koren, G., & Bozzo, P. (2014). Sugar substitutes during pregnancy. *Canadian Family Physician*, 60(11), 1003-1005.
- ProEcuador. (2015). *Instituto de promoción de Exportaciones e Inversiones: Consumo de Alimentos Light*. Recuperado el 18 de mayo de 2017, de:

<http://www.proecuador.gob.ec/pubs/aumenta-el-consumo-de-alimentos-light/>

PubChem. (2013). *PubChem Compound Database: National Center for Biotechnology Information*. Aspartame. Recuperado el 17 de mayo de 2017, de: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/134601>

Qing, Y. (2012). Gain weight by "going diet?" Artificial sweeteners and the neurobiology of sugar cravings. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 101-108.

Rodríguez, A., Noris, E., & Fundora, M. (2016). Principios y relevancia del ensayo cometa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 35(2).

Sánchez, M. (2014). "Edulcorantes: Utilización y Aprovechamiento en diferentes procesos de la industria alimentaria". *Universidad Autónoma de México*.

Stuart, B. (2013). Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Application. *Analytical Techniques in the Sciences*, 2-13.

Terán, S. (2016). *Patrón de consumo de bebidas saludables y no saludables en adultos jóvenes de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador en el periodo 2015-2016*, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.

Thomas, J. (2016). What Are the Dangers of Aspartame for Kids? *Live Strong*, 20(10).

ANEXOS**ANEXO 1****Preparación de Reactivos****Preparación de H₂SO₄ al 50%**

Se prepararon 250 ml de solución.

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$50 \% \times 250 \text{ ml} = 100 \% \times V_2$$

$V_2 = 125 \text{ ml H}_2\text{SO}_4$ si se tratara de ácido sulfúrico 100 % puro; como tiene una pureza de 93.08 %, se realizó un cálculo adicional.

125 ml	100 % puro
X	93.08 %

X= 134.3 ml H₂SO₄ aforar a 250 ml con agua destilada.

Preparación de NaOH al 50%

Se prepararon 250 ml de solución.

50 g	100 ml
X	250 ml

X= 125 g NaOH si fuera 100 % puro, pero al ser su pureza 99 %, se realizó un cálculo adicional.

125 g	100 % puro
X	99 %

X= 126.26 g NaOH aforar a 250 ml con agua destilada exenta de CO₂.

ANEXO 2**Preparación de soluciones patrón de Acesulfame de potasio****Solución Madre 1000 ppm 500 ml**

0.5 g en 500 ml de agua destilada.

Solución 500 ppm 250 ml

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$500 \text{ ppm} \times 250 \text{ mL} = 1000 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 125 \text{ ml}$$

Aforar 125 ml de la solución madre de 1000 ppm a 250 ml con agua destilada.

Solución 100 ppm 50 ml

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL} = 1000 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 5 \text{ ml}$$

Aforar 5 ml de la solución madre de 1000 ppm a 50 ml con agua destilada.

Solución 50 ppm 50 ml

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$50 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml} = 1000 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 2,5 \text{ ml}$$

Aforar 2,5 ml de la solución madre de 1000 ppm a 50 ml con agua destilada.

Solución 25 ppm 50 ml

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$25 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml} = 1000 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 1,25 \text{ ml}$$

No es posible medir exactamente este volumen, por tanto se calculó la preparación de la solución a partir de la solución de 500 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$25 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml} = 500 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 2,5 \text{ ml}$$

Aforar 2,5 ml de la solución de 500 ppm a 50 ml con agua destilada.

Solución 10 ppm 100 ml

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$10 \text{ ppm} \times 100 \text{ ml} = 1000 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 1 \text{ ml}$$

Aforar 1 ml de la solución madre de 1000 ppm a 100 ml con agua destilada.

Solución 5 ppm 100 ml

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$5 \text{ ppm} \times 100 \text{ ml} = 1000 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 0,5 \text{ ml}$$

No es posible tomar 0,5 ml de la solución, pues no se puede medir valores inferiores a 1 ml, por tanto se calculó la preparación de ésta solución a partir de la de 500 ppm.

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$5 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL} = 500 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 1 \text{ ml}$$

Aforar 1 ml de la solución madre de 500 ppm a 100 ml con agua destilada.

ANEXO 3

Preparación de soluciones patrón de Aspartame

Solución Madre 1000 ppm 500 ml

0.5 g en 500 ml de etanol 99%

Solución 500 ppm 250 ml

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$500 \text{ ppm} \times 250 \text{ ml} = 1000 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 125 \text{ ml}$$

Aforar 125 ml de la solución madre de 1000 ppm a 250 ml con etanol 99%

Solución 100 ppm 50 ml

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL} = 1000 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 5 \text{ ml}$$

Aforar 5 ml de la solución madre de 1000 ppm a 50 ml con etanol 99%

Solución 50 ppm 50 ml

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$50 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml} = 1000 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 2,5 \text{ ml}$$

Aforar 2,5 ml de la solución madre de 1000 ppm a 50 ml con etanol 99%

Solución 25 ppm 50 ml

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$25 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml} = 1000 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 1,25 \text{ ml}$$

No es posible medir exactamente este volumen, por tanto se calculó la preparación de la solución a partir de la solución de 500 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$25 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml} = 500 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 2,5 \text{ ml}$$

Aforar 2,5 ml de la solución de 500 ppm a 50 ml con etanol 99%

Solución 10 ppm 100 ml

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$10 \text{ ppm} \times 100 \text{ ml} = 1000 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 1 \text{ ml}$$

Aforar 1 ml de la solución madre de 1000 ppm a 100 ml con etanol 99%

Solución 5 ppm 100 ml

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$5 \text{ ppm} \times 100 \text{ ml} = 1000 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 0,5 \text{ ml}$$

No es posible tomar 0,5 ml de la solución, pues no se puede medir valores inferiores a 1 ml, por tanto se calculó la preparación de ésta solución a partir de la de 500 ppm.

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$5 \text{ ppm} \times 100 \text{ ml} = 500 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 1 \text{ ml}$$

Aforar 1 ml de la solución madre de 500 ppm a 100 ml con etanol 99%

ANEXO 4

Para el cálculo de la concentración de Acesulfame de potasio, se reemplazaron las absorbancias de cada muestra en la ecuación de la recta, así:

Manzana Lote LP2

Lectura: 1.220 nm

Ecuación de la recta: $y = 0.0175x + 0.1068$

Reemplazando el valor de la absorbancia: $x = (1.220 - 0.1068) / 0.0175$

Concentración de Acesulfame de potasio: 63.611 ppm

Se calcularon también los mg de acesulfame de potasio presentes por botella

63.611 mg	1000 ml
-----------	---------

x	25 ml
---	-------

$x = 1.590$ g Acesulfame de potasio en 25 ml de muestra analizada.

1.590 mg	2
----------	---

x	360 ml
---	--------

$x = 22.900$ g Acesulfame de potasio en 360 ml de bebida gaseosa.

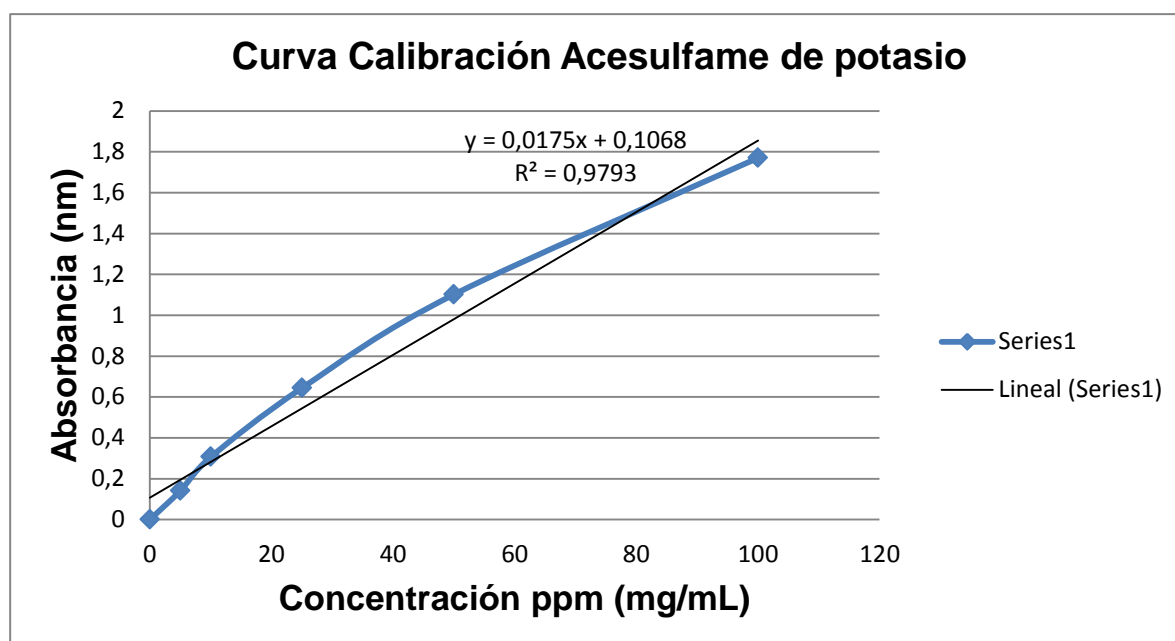


Figura 4. Curva de calibración Acesulfame de potasio

ANEXO 5

Para el cálculo de la concentración de aspartame, se reemplazaron las absorbancias de cada muestra en la ecuación de la recta, así:

Manzana Lote LP2

Lectura: 2.312 nm

Ecuación de la recta: $y = 0.0184x + 0.1283$

Reemplazando el valor de la absorbancia: $x = (2.312 - 0.1283) / 0.0184$

Concentración de aspartame: 118.679 ppm

Se calcularon también los mg de aspartame presentes por botella

118.679 mg 1000 ml

x 25 ml

$x = 2.966$ g aspartame en 25 ml de muestra analizada.

2.966 mg 25 ml

x 360 ml

$x = 42.725$ g aspartame en 360 ml de bebida gaseosa.

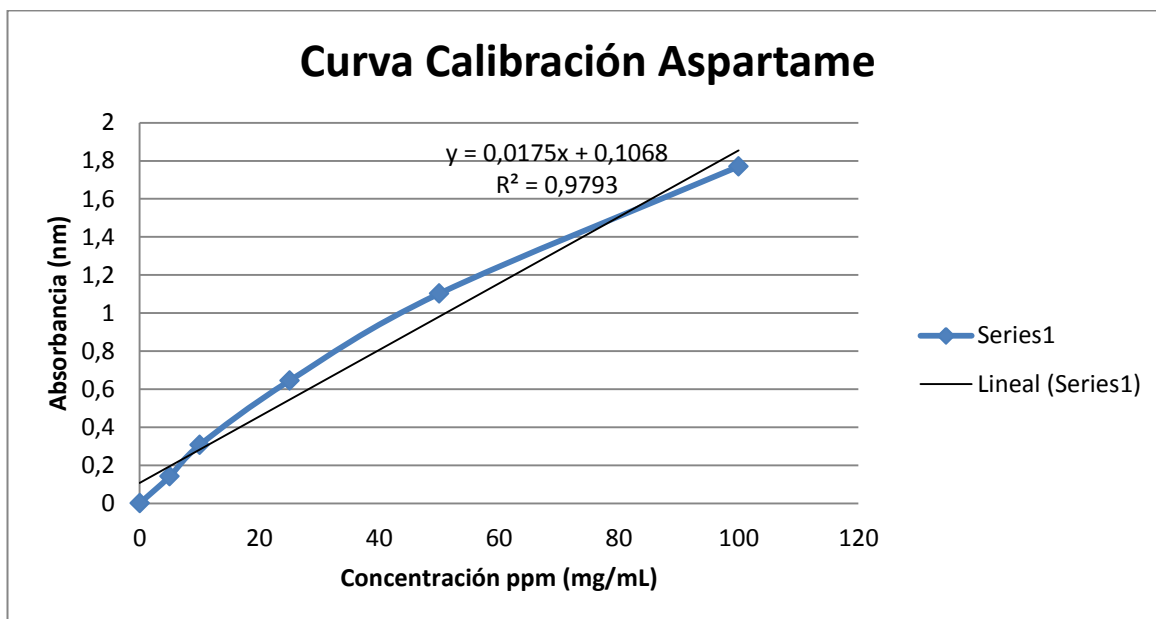


Figura 5. Curva de calibración Aspartame

**ANEXO 6**

Registro de Absorbancias y medias de concentración de Aspartame

Bebida	Volumen ml	PUNTO DE MUESTREO 1					PUNTO DE MUESTREO 2				
		Lote	Abs (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)	Lote	Abs (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)
Manzana	400	LP2	2,312	2,313	118,679	118,734	LP2	2,313	2,313	118,734	118,734
			2,314		118,788			2,312		118,679	
			2,313		118,734			2,314		118,788	
Pepsi Zero	400	LG1	2,212	2,213	113,245	113,317	LG1	2,213	2,213	113,299	113,281
			2,215		113,408			2,215		113,408	
			2,213		113,299			2,21		113,136	
Pepsi light	400	LG1	2,361	2,359	121,342	121,252	LG1	2,36	2,359	121,288	121,216
			2,359		121,234			2,357		121,125	
			2,358		121,179			2,359		121,234	
Cola Gallito	400	LP1	2,352	2,353	120,853	120,889	LP1	2,353	2,353	120,908	120,908
			2,354		120,962			2,354		120,962	
			2,352		120,853			2,352		120,853	
Orangine	400	D2125	2,463	2,463	126,886	126,886	D1177	2,465	2,464	126,995	126,940
			2,461		126,777			2,463		126,886	
			2,465		126,995			2,464		126,940	
Quintuples	355	LM25	2,381	2,383	122,429	122,538	LM3	2,384	2,384	122,592	122,574
			2,385		122,647			2,382		122,484	
			2,383		122,538			2,385		122,647	

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos



Bebida	Volumen	PUNTO DE MUESTREO 1					PUNTO DE MUESTREO 2				
	ml	Lote	Abs (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)	Lote	Abs (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)
Coca Light	500	L2QN	2,312	2,313	118,679	118,734	L2QN	2,312	2,312	118,679	118,697
			2,313		118,734			2,311		118,625	
			2,314		118,788			2,314		118,788	
Big Cola	360	L131	2,466	2,468	127,049	127,139	L131	2,468	2,468	127,158	127,158
			2,468		127,158			2,469		127,212	
			2,469		127,212			2,467		127,103	
American Cola	400	D15165	2,445	2,445	125,908	125,908	L22	2,446	2,444	125,962	125,871
			2,443		125,799			2,443		125,799	
			2,447		126,016			2,444		125,853	
7 up	400	LG1	2,355	2,356	121,016	121,071	LG1	2,355	2,355	121,016	121,016
			2,357		121,125			2,356		121,071	
			2,356		121,071			2,354		120,962	
Sprite zero	400	L1GY	2,567	2,565	132,538	132,447	L2QN	2,566	2,566	132,484	132,466
			2,563		132,321			2,564		132,375	
			2,566		132,484			2,567		132,538	
Coca Zero	500	L2QN	2,342	2,345	120,310	120,473	L2QN	2,345	2,346	120,473	120,509
			2,348		120,636			2,347		120,582	
			2,345		120,473			2,345		120,473	

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos



Bebida	Volumen	PUNTO DE MUESTREO 1					PUNTO DE MUESTREO 2				
	ml	Lote	Abs (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)	Lote	Abs (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)
Oro	360	L131	2,533	2,535	130,690	130,781	L131	2,535	2,535	130,799	130,817
			2,536		130,853			2,534		130,745	
			2,535		130,799			2,537		130,908	
Inca Cola	400	L7GY	2,249	2,247	115,255	115,147	L7GY	2,247	2,247	115,147	115,129
			2,245		115,038			2,245		115,038	
			2,247		115,147			2,248		115,201	
Tropical	360	LP2	2,336	2,335	119,984	119,911	LP2	2,335	2,335	119,929	119,947
			2,333		119,821			2,337		120,038	
			2,335		119,929			2,334		119,875	
Cola mas	400	LG1	2,771	2,773	143,625	143,716	LG1	2,773	2,772	143,734	143,697
			2,773		143,734			2,771		143,625	
			2,774		143,788			2,773		143,734	

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos



Bebida	Volumen ml	PUNTO DE MUESTREO 3					PUNTO DE MUESTREO 4				
		Lote	Abs (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)	Lote	Abs (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media concentración (ppm)
Manzana	360	LP2	2,313	2,312	118,734	118,697	LP2	2,313	2,313	118,734	118,734
			2,313		118,734			2,314		118,788	
			2,311		118,625			2,312		118,679	
Pepsi Zero	400	LG1	2,215	2,214	113,408	113,335	LG1	2,214	2,213	113,353	113,299
			2,212		113,245			2,212		113,245	
			2,214		113,353			2,213		113,299	
Pepsi light	400	LG1	2,36	2,359	121,288	121,216	LG1	2,36	2,359	121,288	121,234
			2,358		121,179			2,358		121,179	
			2,358		121,179			2,359		121,234	
Cola Gallito	400	LG1	2,353	2,353	120,908	120,926	LP1	2,353	2,352	120,908	120,871
			2,354		120,962			2,352		120,853	
			2,353		120,908			2,352		120,853	
Orangine	400	D1177	2,464	2,463	126,940	126,886	D1177	2,462	2,463	126,832	126,886
			2,462		126,832			2,463		126,886	
			2,463		126,886			2,464		126,940	
Quintuple s	355	LP2	2,382	2,384	122,484	122,574	LM25	2,382	2,384	122,484	122,574
			2,384		122,592			2,384		122,592	
			2,385		122,647			2,385		122,647	

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos



Bebida	Volumen ml	PUNTO DE MUESTREO 3					PUNTO DE MUESTREO 4				
		Lote	Abs aspartame (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración aspartame (ppm)	Media de concentración (ppm)	Lote	Abs Aspartame (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración aspartame (ppm)	Media de concentración (ppm)
Coca Light	500	L2QN	2,313	2,313	118,734	118,752	L2QN	2,314	2,313	118,788	118,752
			2,314		118,788			2,314		118,788	
			2,313		118,734			2,312		118,679	
Big Cola	360	L131	2,468	2,468	127,158	127,158	L131	2,467	2,467	127,103	127,103
			2,467		127,103			2,466		127,049	
			2,469		127,212			2,468		127,158	
American Cola	400	D15165	2,446	2,445	125,962	125,908	D15234	2,446	2,444	125,962	125,871
			2,445		125,908			2,444		125,853	
			2,444		125,853			2,443		125,799	
7 up	400	LG1	2,356	2,356	121,071	121,089	LG1	2,356	2,356	121,071	121,053
			2,356		121,071			2,356		121,071	
			2,357		121,125			2,355		121,016	
Sprite zero	400	L7GY	2,565	2,565	132,429	132,447	L2QN	2,564	2,565	132,375	132,447
			2,564		132,375			2,565		132,429	
			2,567		132,538			2,567		132,538	
Coca Zero	500	L7GY	2,345	2,345	120,473	120,491	L2QN	2,347	2,345	120,582	120,491
			2,347		120,582			2,346		120,527	
			2,344		120,418			2,343		120,364	

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos



Bebida	Volumen ml	PUNTO DE MUESTREO 3					PUNTO DE MUESTREO 4				
		Lote	Abs aspartame (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración aspartame (ppm)	Media de concentración (ppm)	Lote	Abs Aspartame (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración aspartame (ppm)	Media de concentración (ppm)
Oro	360	L131	2,534	2,534	130,745	130,726	L131	2,534	2,534	130,745	130,745
			2,532		130,636			2,533		130,690	
			2,535		130,799			2,535		130,799	
Inca Cola	400	L7G Y	2,246	2,248	115,092	115,183	L4G Y	2,248	2,248	115,201	115,183
			2,248		115,201			2,246		115,092	
			2,249		115,255			2,249		115,255	
Tropical	400	LP2	2,334	2,334	119,875	119,893	LP2	2,333	2,334	119,821	119,875
			2,336		119,984			2,335		119,929	
			2,333		119,821			2,334		119,875	
Cola mas	400	LG1	2,77	2,772	143,571	143,679	LG1	2,77	2,772	143,571	143,679
			2,772		143,679			2,774		143,788	
			2,774		143,788			2,772		143,679	

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos

**ANEXO 7**

Estadística descriptiva del Aspartame

Bebida	Punto muestreo 1		Punto muestreo 2		Punto muestreo 3		Punto muestreo 4	
	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico
Manzana	118,73	S = 0,0443	118,73	S = 0,044	118,70	S = 0,0512	118,73	S = 0,0443
		DER = 0,037		DER = 0,037		DER = 0,043		DER = 0,037
		CV = 0,003		CV = 0,003		CV = 0,004		CV = 0,003
Pepsi Zero	113,32	s = 0,067	113,28	s = 0,111	113,34	s = 0,0677	113,30	s = 0,443
		DER = 0,059		DER = 0,098		DER = 0,059		DER = 0,039
		CV = 0,0005		CV = 0,0009		CV = 0,0005		CV = 0,0003
Pepsi light	121,25	S=0,0677	121,22	S=0,0677	121,22	S=0,0512	121,23	S=0,0433
		DER= 0,055		DER= 0,055		DER= 0,042		DER= 0,036
		CV=0,0005		CV=0,0005		CV=0,0004		CV=0,0003
Cola Gallito	120,89	S=0,0512	120,91	S=0,0443	120,93	S=0,025	120,87	S=0,0256
		DER=0,042		DER=0,0366		DER=0,0211		DER=0,0211
		CV=0,0004		CV=0,0003		CV=0,0002		CV=0,0002
Orangine	126,89	S=0,0887	126,90	S=0,0443	126,89	S=0,0443	126,89	S=0,0443
		DER=0,069		DER=0,034		DER=0,034		DER=0,034
		CV=0,0006		CV=0,0003		CV=0,0003		CV=0,0003
Quintuples	122,54	S=0,0887	122,57	S=0,0677	122,57	S=0,0677	122,57	S=0,0677
		DER=0,0724		DER=0,0553		DER=0,0553		DER=0,0553
		CV=0,0007		CV=0,0005		CV=0,0005		CV=0,0005

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos



Bebida	PUNTO MUESTREO 1		PUNTO MUESTREO 2		PUNTO MUESTREO 3		PUNTO MUESTREO 4	
	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico
Coca Light	118,73	S=0,0443	118,70	S=0,0677	118,75	S=0,0256	118,75	S=0,0512
		DER=0,0373		DER=0,057		DER=0,0215		DER=0,043
		CV=0,0003		CV=0,0005		CV=0,0002		CV=0,0004
Big Cola	127,14	S=0,0677	127,16	S=0,0443	127,16	S=0,0443	127,10	S=0,0443
		DER=0,0533		DER=0,034		DER=0,034		DER=0,034
		CV=0,0005		CV=0,0003		CV=0,0003		CV=0,0003
American Cola	125,91	S=0,0887	125,87	S=0,0677	125,91	S=0,0443	125,87	S=0,0677
		DER=0,070		DER=0,053		DER=0,0352		DER=0,053
		CV=0,0007		CV=0,0005		CV=0,0003		CV=0,0005
7 up	121,07	S=0,0443	121,02	S=0,0443	121,09	S=0,0256	121,05	S=0,0256
		DER=0,0366		DER=0,0366		DER=0,0211		DER=0,0211
		CV=0,0003		CV=0,0003		CV=0,0002		CV=0,0002
Sprite zero	132,45	S=0,0923	132,47	S=0,0677	132,45	S=0,0677	132,45	S=0,0677
		DER=0,0697		DER=0,0511		DER=0,0511		DER=0,0511
		CV=0,0006		CV=0,0005		CV=0,0005		CV=0,0005

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos



Bebida	PUNTO MUESTREO 1		PUNTO MUESTREO 2		PUNTO MUESTREO 3		PUNTO MUESTREO 4	
	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico
Coca Zero	120,47	S=0,1333	120,51	S=0,0512	120,49	S=0,0677	120,49	S=0,0923
		DER=0,1105		DER=0,042		DER=0,0565		DER=0,0766
		CV=0,0011		CV=0,0004		CV=0,0005		CV=0,0007
Oro	130,78	S=0,0677	130,82	S=0,0677	130,73	S=0,0677	130,75	S=0,0443
		DER=0,0518		DER=0,0518		DER=0,0518		DER=0,0339
		CV=0,0005		CV=0,0005		CV=0,0005		CV=0,0003
Inca Cola	115,15	S=0,0887	115,13	S=0,0677	115,18	S=0,0677	115,18	S=0,0677
		DER=0,077		DER=0,0588		DER=0,0588		DER=0,0588
		CV=0,0007		CV=0,0005		CV=0,0005		CV=0,0005
Tropical	119,91	S=0,0677	119,95	S=0,0677	119,89	S=0,0677	119,88	S=0,0443
		DER=0,0565		DER=0,0565		DER=0,0565		DER=0,0370
		CV=0,0005		CV=0,0005		CV=0,0005		CV=0,0003
Cola mas	143,72	S=0,0677	143,70	S=0,0512	143,70	S=0,0887	143,68	S=0,0887
		DER=0,0471		DER=0,0356		DER=0,0617		DER=0,0617
		CV=0,0004		CV=0,0003		CV=0,0006		CV=0,0006

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos

**ANEXO 8**

Registro de Absorbancias y medias de concentración de Acesulfame de potasio.

Bebida	Volumen ml	PUNTO DE MUESTREO 1					PUNTO DE MUESTREO 2				
		Lote	Absorbancia (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)	Lote	Absorbancia (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)
Manzana	360	LP2	1,22	1,222	63,611	63,707	LP2	1,220	1,221	63,611	63,669
			1,222		63,726			1,220		63,611	
			1,223		63,783			1,223		63,783	
Pepsi Zero	400	LG1	1,71	1,711	91,611	91,669	LG1	1,714	1,711	91,840	91,688
			1,713		91,783			1,709		91,554	
			1,71		91,611			1,711		91,669	
Pepsi light	400	LG1	1,926	1,925	103,954	103,878	LG1	1,925	1,924	103,897	103,840
			1,923		103,783			1,923		103,783	
			1,925		103,897			1,924		103,840	
Cola Gallito	400	LP1	1,18	1,178	61,326	61,230	LP1	1,180	1,178	61,326	61,211
			1,177		61,154			1,175		61,040	
			1,178		61,211			1,179		61,269	
Orangine	400	D2125	1,224	1,224	63,840	63,859	D1177	1,223	1,224	63,783	63,821
			1,224		63,840			1,224		63,840	
			1,225		63,897			1,224		63,840	
Quintuples	355	LM25	1,108	1,107	57,211	57,154	LM3	1,105	1,107	57,040	57,135
			1,105		57,040			1,107		57,154	
			1,108		57,211			1,108		57,211	

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos



Bebida	Volumen ml	PUNTO DE MUESTREO 1					PUNTO DE MUESTREO 2				
		Lote	Absorbancia (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)	Lote	Absorbancia (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)
Coca Light	500	L2QN	1,7	1,701	91,040	91,116	L2QN	1,701	1,702	91,097	91,154
			1,701		91,097			1,701		91,097	
			1,703		91,211			1,704		91,269	
Big Cola	360	L131	1,657	1,656	88,583	88,545	L131	1,657	1,656	88,583	88,507
			1,655		88,469			1,654		88,411	
			1,657		88,583			1,656		88,526	
American Cola	400	D15165	1,57	1,572	83,611	83,745	L22	1,571	1,573	83,669	83,764
			1,573		83,783			1,573		83,783	
			1,574		83,840			1,574		83,840	
7 up	400	LG1	1,36	1,362	71,611	71,745	LG1	1,361	1,362	71,669	71,726
			1,363		71,783			1,364		71,840	
			1,364		71,840			1,361		71,669	
Sprite zero	400	L1GY	0,725	0,726	35,326	35,383	L2QN	0,725	0,727	35,326	35,421
			0,727		35,440			0,727		35,440	
			0,726		35,383			0,728		35,497	
Coca Zero	500	L2QN	1,541	1,541	81,954	81,973	L2QN	1,543	1,542	82,069	82,011
			1,542		82,011			1,542		82,011	
			1,541		81,954			1,541		81,954	

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos



Bebida	Volumen ml	PUNTO DE MUESTREO 3					PUNTO DE MUESTREO 4				
		Lote	Absorbancia (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)	Lote	Absorbancia (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)
Manzana	360	LP2	1,221	1,221	63,669	63,650	LP2	1,221	1,222	63,669	63,707
			1,222		63,611			1,222		63,726	
			1,221		63,669			1,222		63,726	
Pepsi Zero	400	LG1	1,713	1,712	91,783	91,707	LG1	1,711	1,712	91,669	91,707
			1,711		91,669			1,713		91,783	
			1,711		91,669			1,711		91,669	
Pepsi light	400	LG1	1,924	1,924	103,840	103,840	LG1	1,924	1,924	103,840	103,840
			1,925		103,897			1,925		103,897	
			1,923		103,783			1,923		103,783	
Cola Gallito	400	LG1	1,178	1,179	61,211	61,250	LP1	1,179	1,178	61,269	61,211
			1,178		61,211			1,177		61,154	
			1,18		61,326			1,178		61,211	
Orangine	400	D1177	1,225	1,225	63,897	63,878	D1177	1,225	1,224	63,897	63,859
			1,225		63,897			1,223		63,783	
			1,224		63,840			1,225		63,897	
Quintuples	355	LP2	1,106	1,107	57,097	57,135	LM25	1,107	1,106	57,154	57,097
			1,106		57,097			1,106		57,097	
			1,108		57,211			1,105		57,040	

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos



Bebida	Volumen MI	PUNTO DE MUESTREO 3					PUNTO DE MUESTREO 4				
		Lote	Absorbancia (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)	Lote	Absorbancia (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)
Coca Light	500	L2QN	1,701	1,702	91,097	91,135	L2QN	1,701	1,701	91,097	91,097
			1,702		91,154			1,7		91,040	
			1,702		91,154			1,702		91,154	
Big Cola	360	L131	1,655	1,656	88,469	88,507	L131	1,656	1,656	88,526	88,526
			1,656		88,526			1,657		88,583	
			1,656		88,526			1,655		88,469	
American Cola	400	D15165	1,571	1,572	83,669	83,745	D15234	1,571	1,572	83,669	83,726
			1,572		83,726			1,572		83,726	
			1,574		83,840			1,573		83,783	
7 up	400	LG1	1,362	1,362	71,726	71,726	LG1	1,361	1,361	71,669	71,688
			1,361		71,669			1,36		71,611	
			1,363		71,783			1,363		71,783	
Sprite zero	400	L7GY	0,726	0,726	35,383	35,383	L2QN	0,726	0,726	35,383	35,364
			0,725		35,326			0,726		35,383	
			0,727		35,440			0,725		35,326	
Coca Zero	500	L7GY	1,54	1,540	81,897	81,916	L2QN	1,54	1,541	81,897	81,973
			1,54		81,897			1,542		82,011	
			1,541		81,954			1,542		82,011	

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos



Bebida	Volumen ml	PUNTO DE MUESTREO 3					PUNTO DE MUESTREO 4				
		Lote	Absorbancia (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)	Lote	Absorbancia (nm)	Media Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)	Media de concentración (ppm)
Oro	360	L131	1,171	1,173	60,811	60,926	L131	1,174	1,172	60,983	60,869
			1,174		60,983			1,17		60,754	
			1,174		60,983			1,172		60,869	
Inca Cola	400	L7G Y	1,712	1,713	91,726	91,764	L4G Y	1,713	1,713	91,783	91,802
			1,712		91,726			1,714		91,840	
			1,714		91,840			1,713		91,783	
Tropical	360	LP2	1,241	1,242	64,811	64,850	LP2	1,241	1,242	64,811	64,850
			1,242		64,869			1,243		64,926	
			1,242		64,869			1,241		64,811	
Cola mas	400	LG1	1,213	1,212	63,211	63,173	LG1	1,213	1,213	63,211	63,192
			1,211		63,097			1,213		63,211	
			1,213		63,211			1,212		63,154	

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos

**ANEXO 9**

Estadística descriptiva del Acesulfame de potasio

Bebida	Punto muestreo 1		Punto muestreo 2		Punto muestreo 3		Punto muestreo 4	
	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico
Manzana	63,707	S = 0.071	63,669	S = 0.080	63,65	S = 0.269	63,707	S = 0.026
		DER = 0.112		DER = 0.126		DER = 0.042		DER = 0.042
		CV = 0.001		CV = 0.001		CV = 0.0004		CV = 0.0004
Pepsi Zero	91,669	S = 0.080	91,688	S = 0.117	91,707	S = 0.054	91,707	S = 0.054
		DER = 0.088		DER = 0.128		DER = 0.058		DER = 0.058
		CV = 0.0008		CV = 0.001		CV = 0.0005		CV = 0.0005
Pepsi Light	103,878	S = 0.071	103,84	S = 0.046	103,84	S = 0.046	103,84	S = 0.046
		DER = 0.068		DER = 0.044		DER = 0.044		DER = 0.044
		CV = 0.0006		CV = 0.0004		CV = 0.0004		CV = 0.0004
Gallito	61,23	S = 0.071	61,211	S = 0.123	61,25	S = 0.054	61,211	S = 0.046
		DER = 0.116		DER = 0.201		DER = 0.088		DER = 0.076
		CV = 0.001		CV = 0.002		CV = 0.0008		CV = 0.0007
Orangine	63,859	S = 0.027	63,821	S = 0.027	63,878	S = 0.027	63,859	S = 0.054
		DER = 0.042		DER = 0.042		DER = 0.042		DER = 0.084
		CV = 0.0004		CV = 0.0004		CV = 0.0004		CV = 0.0008
Quintuples	57,154	S = 0.080	57,135	S = 0.071	57,135	S = 0.054	57,097	S = 0.047
		DER = 0.141		DER = 0.125		DER = 0.094		DER = 0.082
		CV = 0.001		CV = 0.001		CV = 0.0009		CV = 0.0008
Coca Light	91,116	S = 0.071	91,154	S = 0.080	91,135	S = 0.027	91,097	S = 0.047
		DER = 0.078		DER = 0.089		DER = 0.030		DER = 0.051
		CV = 0.0008		CV = 0.0009		CV = 0.0003		CV = 0.0005
Big Cola	88,545	S = 0.054	88,507	S = 0.071	88,507	S = 0.027	88,526	S = 0.047
		DER = 0.061		DER = 0.081		DER = 0.030		DER = 0.053
		CV = 0.0006		CV = 0.0008		CV = 0.0003		CV = 0.0005

Jennyfer Karina Astudillo Orellana
Ana Belén Orellana Cobos



Bebida	Punto muestreo 1		Punto muestreo 2		Punto muestreo 3		Punto muestreo 4	
	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico	Concentración ppm	Análisis estadístico
American Cola	83,745	S = 0.097	83,764	S = 0.071	83,745	S = 0.071	83,726	S = 0.047
		DER = 0.116		DER = 0.085		DER = 0.085		DER = 0.056
		CV = 0.001		CV = 0.0009		CV = 0.0009		CV = 0.0006
7 UP	71,745	S = 0.097	71,726	S = 0.080	71,726	S = 0.047	71,688	S = 0.071
		DER = 0.135		DER = 0.113		DER = 0.065		DER = 0.099
		CV = 0.001		CV = 0.001		CV = 0.0007		CV = 0.0009
Sprite Zero	35,383	S = 0.047	35,421	S = 0.071	35,383	S = 0.047	35,364	S = 0.027
		DER = 0.132		DER = 0.201		DER = 0.132		DER = 0.076
		CV = 0.001		CV = 0.002		CV = 0.001		CV = 0.0008
Coca Zero	81,973	S = 0.027	82,011	S = 0.047	81,916	S = 0.027	81,973	S = 0.054
		DER = 0.033		DER = 0.057		DER = 0.033		DER = 0.066
		CV = 0.0003		CV = 0.0006		CV = 0.0003		CV = 0.0007
Oro	60,888	S = 0.097	60,869	S = 0.093	60,926	S = 0.080	60,869	S = 0.093
		DER = 0.160		DER = 0.153		DER = 0.132		DER = 0.153
		CV = 0.002		CV = 0.002		CV = 0.001		CV = 0.002
Inca Cola	91,783	S = 0.047	91,783	S = 0.093	91,764	S = 0.054	91,802	S = 0.027
		DER = 0.051		DER = 0.102		DER = 0.059		DER = 0.029
		CV = 0.0005		CV = 0.001		CV = 0.0006		CV = 0.0003
Tropical	64,85	S = 0.071	64,869	S = 0.047	64,85	S = 0.027	64,85	S = 0.054
		DER = 0.110		DER = 0.072		DER = 0.042		DER = 0.083
		CV = 0.001		CV = 0.0007		CV = 0.0004		CV = 0.0008
Cola Más	63,211	S = 0.047	63,211	S = 0.047	63,173	S = 0.054	63,192	S = 0.027
		DER = 0.074		DER = 0.074		DER = 0.085		DER = 0.043
		CV = 0.0007		CV = 0.0007		CV = 0.0009		CV = 0.0004

ANEXO 10

Procedimiento de extracción Acesulfame de potasio

1°



2°



3°



4°



5°



6°



ANEXO 11

Procedimiento extracción Aspartame

1°



2°



3°



4°



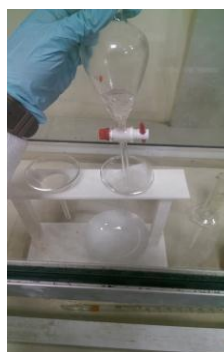
5°



6°



7°



8°



ANEXO 12

Espectrofotómetro de UV y luz visible, MARCA: CIBA-CORNING, MODELO: 2800
ESPECTRASCAN, SERIE: UDO2076-1

